

# CRYPTOGAMIE

## ALGOLOGIE

TOME 9 Fascicule 3 1988

Rf 6103 A

LABORATOIRE DE CRYPTOLOGIE  
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE  
12, RUE BUFFON, 75005 PARIS



PUBLICATION TRIMESTRIELLE

Août 1988

Source: MNHN, Paris

## COMITÉ DE LECTURE

F. ARDRÉ (Paris), Ed. BOUREAU (Paris), P. COMPÈRE (Meise), A. COUTÉ (Paris), G. DUCREUX (Paris), F. GASSE (Paris), P. GAYRAL (Caen), M. GUERLESQUIN (Angers), J.M. JONES (Isle of Man), M.T. L'HARDY (Le Mans), J.W.G. LUND (Ambleside), F. MAGNE (Paris), D. MOLLENHAUER (Frankfurt/Main), G.W. PRESCOTT (Wyoming), C.W. REIMER (Philadelphia), M. RICARD (Paris), J. SEOANE-CAMBA (Barcelone), A. SOURNIA (Roscoff), J.A. WEST (Berkeley).

## MANUSCRITS

Les recommandations aux auteurs sont publiées dans le premier fascicule de chaque tome. Les auteurs sont priés d'adresser leurs manuscrits (en trois exemplaires) au Directeur-Rédacteur de *Cryptogamie, Algologie*, Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle, 12 rue Buffon, 75005 Paris.

Les tirages à part et les illustrations sont à la charge des auteurs.

## ABONNEMENTS A CRYPTO GAMIE

Tome 9, 1988

CRYPTOGAMIE comprend trois sections : ALGOLOGIE, BRYOLOGIE-LICHÉNOLOGIE, MYCOLOGIE.

Abonnement à 1 section :

France .....	(HT 305 F) 317,20 F
Étranger .....	HT 335,00 F

Abonnement aux 3 sections :

France .....	(HT 870 F) 904,80 F
Étranger .....	HT 950,00 F

Prière de bien vouloir envoyer le montant par chèque bancaire ou par chèque postal libellé à l'ordre de : CRYPTO GAMIE, Algologie, et adressé à :

CRYPTOGAMIE, Algologie  
Laboratoire de Cryptogamie  
12, rue Buffon, 75005 Paris  
C.C.P. : Paris 14 522 31 T

*Cryptogamie, Algologie* est indexé par *Aquatic Sciences Fisheries Abstracts Part 1*, *Biological Abstracts*, *Chemical Abstracts*, *Current Contents*, *Marine Science Contents Tables* (F.A.O.), Publications bibliographiques du CDST (Pascal).

IRG 103 A

# CRYPTOGAMIE

## ALGOLOGIE

TOME 9 Fascicule 3 1988

Anciennement REVUE ALGOLOGIQUE

Fondée en 1922 par P. ALLORGE et G. HAMEL

Directeur-Rédacteur : P. BOURRELLY

Éditeur : A.D.A.C.

### SOMMAIRE

P.F.M. COESEL — Biosystematic studies on the <i>Closterium moniliferum/ehrenbergii</i> complex (Chlorophyta, Conjugatophyceae) in western Europe. III. Morphological variability . . . . .	165
J. CAMBRA et A. COUTÉ — Observation au M.E.B. des zygotes de <i>Sphaeroplea africana</i> et <i>S. annulina</i> (Chlorophyta, Ulotrichophyceae, Sphaeropleales) . . . . .	173
S. SHANAB et M.H. ABDEL-RAHMAN — Action de la photopériode et de la température sur la ramification chez <i>Bachelotia antillarum</i> (Phaeophyceae, Ectocarpales) . . . . .	183
K. SAINT-MARTIN, M. DURAND-CLÉMENT et P. BOURDEAU — Contribution à l'étude des rapports entre les macroalgues et <i>Gambierdiscus toxicus</i> (Dinophyceae), agent causal de la ciguatera . . . . .	195
D.B. CZARNECKI — The Loras College non-diatom freshwater algal culture collection . . . . .	203
M. EPIARD-LAHAYE — Effects of ammonium, nitrate and phosphate on the growth of <i>Cystoseira stricta</i> (Phaeophyta, Fucales) cuttings in culture . . . . .	211
A. RIO et J. CABIOCH — Apparition du <i>Caulacanthus ustulatus</i> (Rhodophyta, Gigartinales) dans la Manche occidentale . . . . .	231
U.D. BONGALE — Certain new taxa of <i>Euastrum spinulosum</i> (Desmidiaceae) from Karnataka State (India) . . . . .	235
Ouvrages reçus pour analyse . . . . .	239



# CRYPTOGAMIE, ALGOLOGIE

Tome 9 Fascicule 3 1988

---

## CONTENTS

P.F.M. COESEL — Biosystematic studies on the <i>Closterium moniliferum/ehrenbergii</i> complex (Chlorophyta, Conjugatophyceae) in western Europe. III. Morphological variability . . . . .	165
J. CAMBRA et A. COUTÉ — Observation with SEM of the zygospores of <i>Sphaeroplea africana</i> and <i>S. annulina</i> (Chlorophyta, Ulotrichophyceae, Sphaeropleales) . . . . .	173
S. SHANAB et M.H. ABDEL-RAHMAN — Action of photoperiod and temperature on the ramification of <i>Bachelotia antillarum</i> (Phaeophyceae, Ectocarpales) . . . . .	183
K. SAINT-MARTIN, M. DURAND-CLÉMENT et P. BOURDEAU — Contribution to the study of the relations between macroalgae and <i>Gambierdiscus toxicus</i> , Dinophyceae responsible for ciguatera . . . . .	195
D.B. CZARNECKI — The Loras College non-diatom freshwater algal culture collection . . . . .	203
M. EPIARD-LAHAYE — Effects of ammonium, nitrate and phosphate on the growth of <i>Cystoseira stricta</i> (Phaeophyta, Fucales) cuttings in culture . . . . .	211
A. RIO et J. CABIOCH — Presence of <i>Caulacanthus ustulatus</i> (Rhodophyta, Gigartinales) in western Channel . . . . .	321
U.D. BONGALE — Certain new taxa of <i>Euastrum spinulosum</i> (Desmidiaceae) from Karnataka State (India) . . . . .	235
Books review . . . . .	239

**BIOSYSTEMATIC STUDIES ON THE *CLOSTERIUM*  
*MONILIFERUM*/*EHRENBORGII* COMPLEX  
 (CHLOROPHYTA, CONJUGATOPHYCEAE)  
 IN WESTERN EUROPE. III. MORPHOLOGICAL VARIABILITY**

P.F.M. COESEL\*

**ABSTRACT.** — The morphological variability of 278 isolates of *Closterium ehrenbergii* and *C. moniliferum* originating from 17 populations in The Netherlands and England was analysed under uniform culture conditions. Dutch *C. ehrenbergii* isolates (mean cell length 376  $\mu\text{m}$ , mean width 70  $\mu\text{m}$ , mean curvature 112°) take an intermediate position between English *C. ehrenbergii* isolates ( $\bar{L}$  : 529  $\mu\text{m}$ ,  $\bar{W}$  : 92  $\mu\text{m}$ ,  $\bar{C}$  : 104°) and all *C. moniliferum* isolates ( $\bar{L}$  : 226  $\mu\text{m}$ ,  $\bar{W}$  : 42  $\mu\text{m}$ ,  $\bar{C}$  : 114°). This supports the notion based on previous biochemical analyses and mating experiments, that the Dutch *C. ehrenbergii* isolates belong to another biological entity than the English ones, more precisely, have a closer relationship to the *C. moniliferum* isolates.

**RÉSUMÉ.** — La variabilité morphologique de 278 souches des *Closterium ehrenbergii* et *C. moniliferum* isolées de 17 populations en Hollande et en Angleterre est analysée dans des conditions de culture uniformes. Les souches de *C. ehrenbergii* isolées en Hollande (longueur moyenne de la cellule 376  $\mu\text{m}$ , largeur moyenne 70  $\mu\text{m}$ , courbure moyenne 112°) occupent une position intermédiaire entre les souches de *C. ehrenbergii* isolées en Angleterre ( $\bar{L}$  : 529  $\mu\text{m}$ ,  $\bar{L}_a$  : 92  $\mu\text{m}$ ,  $\bar{C}$  : 104°) et l'ensemble des souches de *C. moniliferum* ( $\bar{L}$  : 226  $\mu\text{m}$ ,  $\bar{L}_a$  : 42  $\mu\text{m}$ ,  $\bar{C}$  : 114°). Ceci renforce la notion, déjà acquise grâce aux analyses biochimiques et aux expériences sur la reproduction sexuée, que les souches de *C. ehrenbergii* isolées en Hollande appartiennent à une autre entité biologique que les souches de *C. ehrenbergii* isolées en Angleterre, et plus précisément qu'elles sont plus proches des souches de *C. moniliferum*.

**KEY WORDS :** biosystematics, morphological variability, desmids, *Closterium moniliferum*, *Closterium ehrenbergii*.

## INTRODUCTION

In a previous paper (Coesel & Menken, 1988) we drew the attention to marked differences in isozyme patterns between a number of Dutch and English populations of *Closterium ehrenbergii* Menegh. ex Ralfs. In fact, much more

\* Hugo de Vries - laboratory, University of Amsterdam, Kruislaan 318, NL-1098SM Amsterdam, The Netherlands.

resemblance could be established between Dutch populations of *Closterium ehrenbergii* and Dutch or English populations of *Closterium moniliferum* (Bory) Ehr. ex Ralfs than between Dutch populations of *C. ehrenbergii* and English ones of that same typological species. The low phenotypic identity in isozymes between the Dutch and English *C. ehrenbergii* populations indicate intrinsic genetic differences. Indeed, it was not possible to cross Dutch strains of *C. ehrenbergii* sexually with English ones. While all 66 *C. ehrenbergii* clones from English populations appeared, as plus or minus strains, to male part of one single mating group, we did not succeed in inducing any sexual activity at all in 90 Dutch clones of *C. ehrenbergii* (Coesel, 1988).

While all these 156 clones on the basis of cell shape, cell dimensions and arrangement of pyrenoids unmistakably refer to the typological species *C. ehrenbergii*, some more or less consistent morphological differences between the Dutch and the English populations can be observed. These morphological differences are the topic of this paper.

## MATERIAL AND METHODS

The material investigated consists of 156 clones of *C. ehrenbergii* originating from four English (A-D) and five Dutch (E-I) populations, and 122 clones of *C. moniliferum* from two English (J-K) and six Dutch (L-Q) populations. For details concerning the sampling stations, see Coesel & Menken (1988), for culture conditions of the clones Francke & Coesel (1985).

The clones were morphologically screened in a stationary growth phase. From each clone 25 cells were randomly selected for measuring of length (distance between apices to  $\pm 5 \mu\text{m}$ ), width (maximum value in  $\mu\text{m}$  at the mid region) and curvature. The degree of curvature was assessed to the nearest  $5^\circ$  interval using the so-called Closterio-curvimeter devised by Heimans (1946), by superposing it over the microscopic image of the cell obtained with a drawing-tube. Moreover, from a survey of hundreds of cells in each clone, the upper and lower limits for length, width and curvature were established (obvious rare anomalous growth forms were excluded).

## RESULTS

The mean values for cell length, cell width and curvature obtained from a random test of 25 cells out of each clone were used for calculating the data per population as presented in Table 1. For each of the populations of *C. ehrenbergii* and *C. moniliferum* the mean values with standard deviation have been assessed by averaging over the mean values of the individual clones. In addition extreme values for the three parameters, detected by inspecting large lots of cells are supplied. These extreme values may be useful in evaluating the discriminating significance of a given parameter.

Spec.	Pop.	No. of clones	Cell length ( $\mu\text{m}$ )			Cell width ( $\mu\text{m}$ )			Curvature ( $^{\circ}$ )		
			Mean	SD	Extremes	Mean	SD	Extremes	Mean	SD	Extremes
<i>C. ehr.</i>	A	3	555	51.5	455-675	102	5.9	95-114	107	11.1	85-125
	B	16	501	40.5	380-630	85	5.2	76-100	105	9.8	85-140
	C	35	520	46.7	410-700	88	5.9	74-105	98	7.5	80-120
	D	12	541	68.8	365-725	91	4.9	84-103	105	6.3	85-125
	E	8	375	20.1	310-455	67	1.5	63- 72	111	3.5	90-120
	F	27	385	20.0	300-485	72	5.6	59- 82	113	5.6	90-135
	G	5	366	21.0	320-410	74	2.9	69- 80	112	5.4	95-130
	H	9	374	11.9	315-420	70	1.7	65- 74	116	7.2	95-135
	I	41	380	20.3	310-460	65	4.6	57- 76	110	8.5	90-150
<i>C. mon.</i>	J	21	214	17.5	140-265	36	3.2	30- 40	109	4.4	90-130
	K	4	242	26.7	190-285	42	7.2	32- 49	109	13.0	90-135
	L	6	226	17.1	190-280	39	4.8	34- 46	106	10.6	85-125
	M	12	207	16.0	180-260	42	5.4	31- 49	111	10.1	85-140
	N	34	233	17.0	175-275	44	3.7	34- 48	126	8.6	95-155
	O	17	237	13.1	195-275	46	1.9	40- 49	119	10.6	95-160
	P	24	227	18.0	180-280	45	2.2	40- 51	118	11.9	90-150
	Q	4	219	10.9	185-260	43	2.5	40- 48	115	12.7	90-135

Table I — Mean values with standard deviation per population of *C. ehrenbergii* and *C. moniliferum* for cell length, cell width and degree of curvature. Also the most extreme values measured in any of the clones belonging to a given population are stated.

From Table I at first glance a marked difference in dimensions is clear between *C. ehrenbergii* and *C. moniliferum*, which were primarily identified on the basis of arrangement of pyrenoids. Within the *C. moniliferum* clones cell length is always less than 300  $\mu\text{m}$ . This seems to be the lower limit for cell length in *C. ehrenbergii*. Likewise, in the material under discussion a cell width of ca. 55  $\mu\text{m}$  can be assigned as an absolute dividing line between the two species. The clear discrimination of these two dimensions contrasts with a large overlap of the degree of curvature found in the two species. Besides discriminating between the two species, these measures also reveal differences between Dutch and English populations of *C. ehrenbergii*. This is seen when the values from Table I are graphically represented in scatter diagrams. Fig. 1 in which mean cell length for all individual populations is plotted against cell width, three distinct clusters are discernable. One of these, showing no overlap at all, concerns all clones of *C. moniliferum*. The other ones refer to all Dutch *C. ehrenbergii* clones and

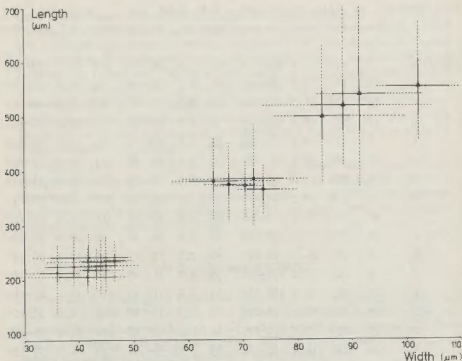


Fig. 1 — Diagram showing variability in cell length and width in populations of *C. moniliferum* (mean values indicated as dots), *C. ehrenbergii* from Holland (mean values indicated as squares), and *C. ehrenbergii* from England (mean values indicated as triangles). Solid lines indicate standard deviations, dotted lines extreme values encountered in any of the clones belonging to a given population.

all English *C. ehrenbergii* clones respectively. The phenotype clusters corresponding to Dutch and English *C. ehrenbergii* respectively are completely separated when mean population values with standard deviations are considered. If the extreme values found in hundreds of cells of each clone are included, there is some overlap, especially in cell length. A similar, if less obvious, distinction between Dutch and English populations of *C. ehrenbergii* can be noted with respect to the degree of curvature. Fig. 2 in which curvature is plotted against cell length, shows that the mean curvature values for the English populations are all lower than these for the Dutch ones. However, there is considerable overlap in the individual values per population as seen by the standard deviations.

These differences in morphology between Dutch and English *C. ehrenbergii* populations are also manifest from Figs. 3-8 showing photographs of cells from



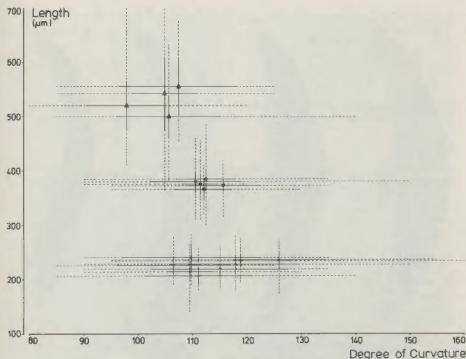


Fig. 2 — Diagram showing variability in cell length and curvature in populations of *C. moniliferum* (dots), *C. ehrenbergii* from Holland (squares) and *C. ehrenbergii* from England (triangles). Symbols as in Fig. 1.

both groups as compared with some *C. moniliferum* clones. Apart from differences in absolute cell length and width, corresponding to the three groups in question, there are also differences in cell slenderness (length to width ratio). However, these are not fully congruent with the above mentioned groups. Length to width ratios per population range from 5 to 6 within each of the three morphological groups: Dutch *C. ehrenbergii*, English *C. ehrenbergii* and *C. moniliferum* (Table II). Within *C. ehrenbergii*, there is a slight tendency in the English populations for a somewhat higher ratio than in the Dutch ones.

## DISCUSSION

The present results make clear that on the basis of the available clones *C. ehrenbergii* from England can be morphologically distinguished from Dutch clones of that species. In fact the Dutch *C. ehrenbergii* clones that in their isozyme

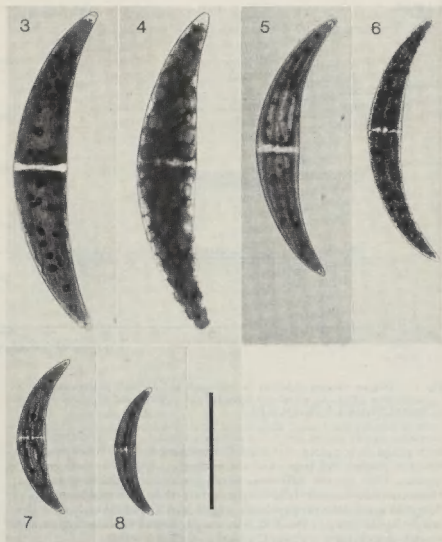


Fig. 3-8 — Photographs showing morphological variability. Figs. 3-4 : *C. ehrenbergii* from England (clones nos 837 and 902, from populations D and C respectively). Figs. 5-6 : *C. ehrenbergii* from Holland (clones nos 241 and 1025, from populations E and I respectively). Figs. 7-8 : *C. moniliferum* (clones nos 1052 and 782, from populations P and J respectively). Scale bar : 200  $\mu$ m.

banding patterns much more resemble *C. moniliferum* than the English *C. ehrenbergii* clones do (Coesel & Menken, 1988), appear also in a morphological

Pop.	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
L/W	5.4	5.9	5.9	5.9	5.5	5.4	5.0	5.3	5.9	6.0	5.9	5.9	5.0	5.3	5.1	5.1	5.1
SD	0.2	0.4	0.4	0.6	0.3	0.5	0.2	0.2	0.6	0.5	0.5	0.8	0.5	0.4	0.2	0.2	0.2

Table II — Mean cell length to width ratio with standard deviation per population of English *C. ehrenbergii* (A-D), Dutch *C. ehrenbergii* (E-I), English *C. moniliferum* (J-K), and Dutch *C. moniliferum* (L-Q).

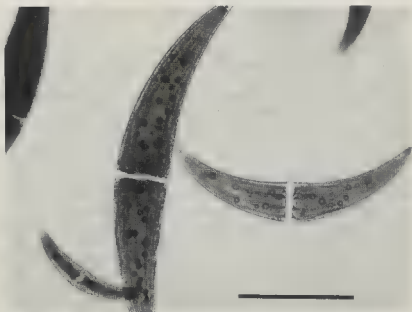


Fig. 9 — Photograph illustrating the intermediate morphological character of *C. ehrenbergii* from Holland (clone no 245 from population E, right in the picture) as compared to *C. ehrenbergii* from England (clone no 837 from population D, mid in picture) and *C. moniliferum* (clone no 744 from population J, lower left). Scale bar : 200  $\mu$ m.

sense nearer to *C. moniliferum* than the English ones do. The intermediate character in dimensions of Dutch *C. ehrenbergii* as compared with *C. moniliferum* and English *C. ehrenbergii* is especially well illustrated in Fig. 9 where the three types are shown next to each other.

The morphological differences between English and Dutch populations of *C. ehrenbergii* in addition to the previously established differences in isozymes

	Cell length ( $\mu\text{m}$ )			Width ( $\mu\text{m}$ )			Curvature ( $^{\circ}$ )		
	Range	Mean	SD	Range	Mean	SD	Range	Mean	SD
<i>C. ehrenbergii</i> -England	501-555	529	23.7	85-102	92	7.4	98-107	104	3.9
<i>C. ehrenbergii</i> -Holland	366-385	376	7.1	65-74	70	3.6	110-116	112	2.3
<i>C. moniliferum</i>	207-242	226	11.8	36-46	42	3.3	106-126	114	6.6

Table III — Morphological characteristics, based on mean population values, for the three clusters distinguished within the *Closterium* clones investigated.

and sexual compatibility support the notion that this typological species in western Europe comprises several biological entities. This has also been found for Asiatic (mainly Japanese) populations of *C. ehrenbergii* by Ichimura and co-workers (e. g. Ichimura, 1985). When comparing our morphological data with those supplied by Kasai & Ichimura (1986) for three different mating groups of *C. ehrenbergii*, comprising strains from Japan, Nepal, Taiwan and Australia, the relatively small cell dimensions in those mating groups are notable. The mean length (404  $\mu\text{m}$ ) and width (67  $\mu\text{m}$ ) values in their mating group B are in the range of our Dutch *C. ehrenbergii* clones while the mean cell sizes in their mating groups H ( $\bar{l}$ g : 333  $\mu\text{m}$ ,  $\bar{w}$  : 57  $\mu\text{m}$ ) and especially A ( $\bar{l}$ g : 250  $\mu\text{m}$ ,  $\bar{w}$  : 50  $\mu\text{m}$ ) approach those of our *C. moniliferum* clones (Table III). On the other hand the large cell dimensions of our English *C. ehrenbergii* clones are rarely found in the Asiatic material, i. e. two Taiwanese strains belonging to their mating group B. However, compared with those two strains our English *C. ehrenbergii* clones are distinctly less curved and less slender (see figs. 3m-n in Kasai & Ichimura, l. c.). A valid assessment of the relationship between the *C. ehrenbergii* clones dealt with in this paper and the Asiatic ones studied by Ichimura c. s. will have to await a more detailed investigation of the geographical distribution and ecology of the so-called Dutch and English *C. ehrenbergii* types in western Europe.

#### REFERENCES

- COESEL P.F.M., 1988 — Biosystematic studies on the *Closterium moniliferum/ehrenbergii* complex (Chlorophyta, Conjugatophyceae) in western Europe. II. Sexual compatibility. *Phycologia* (in press).
- COESEL P.F.M. & MENKEN S.B.J., 1988 — Biosystematic studies on the *Closterium moniliferum/ehrenbergii* complex (Chlorophyta, Conjugatophyceae) in western Europe. I. Isozyme patterns. *Brit. Phycol. J.* 23 : 193-198.
- FRANCKE J.A. & COESEL P.F.M., 1985 — Isozyme variation within and between Dutch populations of *Closterium ehrenbergii* and *C. moniliferum* (Chlorophyta, Conjugatophyceae). *Brit. Phycol. J.* 20 : 201-209.
- HEIMANS J., 1946 — On Closteriometry. *Biol. Jaarb. Dodonaea* 13 : 146-154.
- ICHIMURA T., 1985 — Geographical distribution and isolation mechanisms in the *Closterium ehrenbergii* species complex (Chlorophyceae, Closteriaceae). In HARA H. (Ed.), *Origin and evolution of diversity in plants and plant communities*. Academia Scientific Book Inc., Tokyo, pp. 295-303.
- KASAI F. & ICHIMURA T., 1986 — Morphological variabilities of three closely related mating groups of *Closterium ehrenbergii* Menegh. (Chlorophyta). *J. Phycol.* 22 : 158-168.

# OBSERVATION AU M.E.B. DES ZYGOTES DE *SPHAEROPLEA AFRICANA* ET *S. ANNULINA* (CHLOROPHYTA, ULOTRICHOPHYCEAE, SPHAEROPLEALES)

Jaume CAMBRA\* et Alain COUTÉ\*\*

**RÉSUMÉ.** — Les auteurs signalent la présence, pour la première fois en Espagne, de *Sphaeroplea africana* Fritsch. Ils décrivent à l'aide du M.E.B. la paroi des oospores de cette espèce ainsi que celle des oospores de *S. annulina* (Roth) Ag. Des données écologiques détaillées sur les milieux où se développent ces deux algues sont également fournies.

**SUMMARY** — The authors point out the presence for the first time in Spain of *Sphaeroplea africana* Fritsch. They describe with the help of S.E.M. the cell wall of the zygospores of this species and of *S. annulina* (Roth) Ag. Detailed ecological data are given about the biotopes where grow these algae.

**MOTS CLÉS** : algues, eaux douces, *Sphaeroplea*, oospores, M.E.B., écologie.

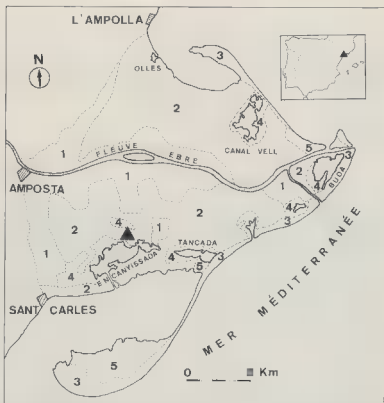
## INTRODUCTION

Au cours de recherches phycologiques dans le delta de l'Ebre, en Catalogne espagnole, l'un des auteurs (Cambra) a découvert *Sphaeroplea africana* Fritsch et *S. annulina* (Roth) Ag. dans une rizière à *Oriza sativa* L. (carte). *S. africana* constitue une nouveauté pour l'Espagne selon les listes floristiques établies par Cambra (1985) et Alvarez Cobelas (1986).

Les *Sphaeroplea* des eaux continentales espagnoles (et probablement celles des autres régions méditerranéennes) sont encore peu étudiés et mal connus. En Espagne, seulement trois espèces du genre ont été répertoriées jusqu'à présent: *S. annulina* (Margalef, 1944, 1952), *S. crassisepta* (Heinricher) Klebahn (Margalef, 1947) et *S. wilmani* Fritsch et Rich (Perera & Cambra, 1986). Toutes se développent dans des eaux temporaires ou dans des rizières.

\* Dept. Biologia Vegetal, Unitat Botànica, Fac. Biologia, Univ. Barcelona, Av. Diagonal, 645 Barcelona 08020, Espana.

\*\* Laboratoire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle, 12 rue Buffon, 75005 Paris, France; U.A. n° 257 (C.N.R.S.).



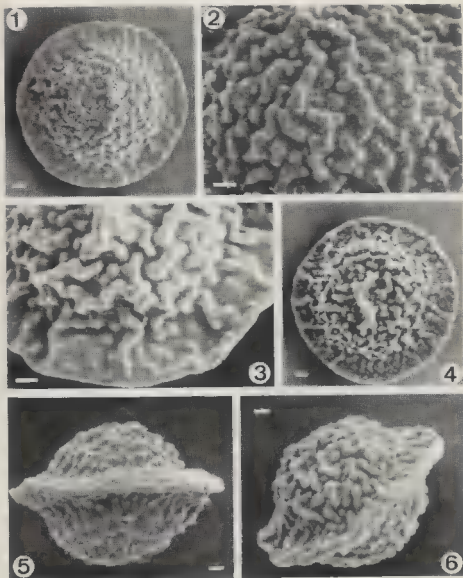
Carte : 1. Cultures; 2. Rizières; 3. Sol sablonneux; 4. Végétation hélophytique; 5. Végétation halophytique.

Disposant de matériel en quantité suffisante pour tenter une étude au microscope électronique à balayage (= M.E.B.) et pour compléter les travaux antérieurs de Sarma (1974), de Tracanna & Couté (1982), de Buchheim & Hoffman (1985) et enfin de Hoffman (1986) effectués sur d'autres espèces, il nous a paru intéressant de décrire l'ultrastructure de la paroi des oospores (= zygotes) de *S. africana* et de *S. annulina* aux fins de comparaison.

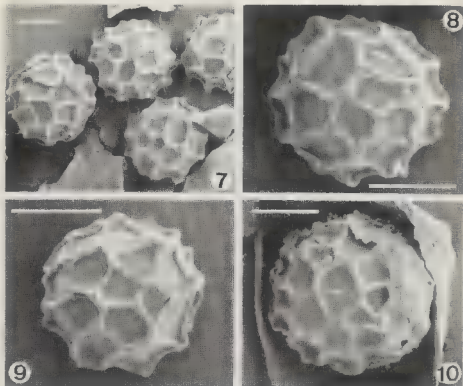
### MÉTHODES

La technique de préparation du matériel est identique à celle qui a été utilisée par Tracanna & Couté (1982).

Les observations et les prises de vues ont été faites sur le microscope électronique à balayage JEOL 840 A du Service Commun des Laboratoires des Sciences de la Vie du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris.



Figures 1 à 6 : *Sphaeroplea africana* Fritsch  $\mu$ M.E.B. — Fig. 1 et 4 : vues de face de deux oospores. Fig. 2 et 3 : détails de la paroi de deux oospores. Fig. 2 : détail de l'oospore de la figure 1. Fig. 3 : détail de l'oospore de la figure 4. — Fig. 5 et 6 : vues de profil de deux oospores. Les traits d'échelle représentent 1  $\mu$ m.



Figures 7 à 10 : *Sphaeroplea annulina* (Roth) Ag. — Fig. 7 : quatre oospores avec des fragments de l'enveloppe du filament. — Fig. 8 à 10 : vues de trois oospores différentes. Les traits d'échelle représentent 10  $\mu$ m.

## RÉSULTATS

### *Sphaeroplea africana* Fritsch (fig. 1 à 6)

En microscopie photonique, nos échantillons apparaissent comme de simples filaments de 30-40  $\mu$ m de diamètre avec des pôles atténués. Chacun des articles constituant le filament renferme plusieurs chloroplastes pariétaux annelés. On observe toujours plusieurs pyrénoides par chloroplaste. Dans les filaments fertiles, les oospores sont disposées en plusieurs séries (2 ou 3) longitudinales. En vue de face, elles sont circulaires. Leur diamètre varie entre 20 et 25  $\mu$ m. De profil, elles sont ellipsoïdales et présentent une crête ou carène équatoriale. Leur épaisseur est de 12,5 à 17,5  $\mu$ m.



L'étude au M.E.B. montre que l'ornementation de la paroi des oospores n'est pas seulement grossièrement granuleuse comme l'avait signalé Fritsch (1918). En effet, la partie centrale de l'oospore, en vue de face ou de profil, apparaît couverte de granules et de bourrelets grossiers, parfois ramifiés, et plus ou moins anastomosés (fig. 2 et 3) disposés sans ordre. Le diamètre des granules peut atteindre  $0,5\text{ }\mu\text{m}$  comme l'épaisseur des bourrelets. Par contre, la longueur de ces derniers peut dépasser  $3\text{ }\mu\text{m}$ . La crête ou carène équatoriale, en vue de face, semble peu ornementée (fig. 1 et 3) chez certaines oospores tandis que chez d'autres (fig. 4 et 6) rien ne la distingue de la région centrale. L'épaisseur de la crête n'excède pas  $1\text{ }\mu\text{m}$ .

Enfin, quelques oospores montrent parfois à l'un de leurs apex une crête secondaire, sinueuse (fig. 4), disposée perpendiculairement par rapport à l'arête équatoriale. Cette crête semble correspondre à la fusion de plusieurs bourrelets ornementaux de la paroi.

*Sphaeroplea annulina* (Roth) C.A. Ag.  
(fig. 7 à 10)

Chez cette espèce qui, selon Fritsch (1929) et Gauthier-Lièvre (1941), est connue du monde entier sauf d'Australie, les filaments ont un diamètre de  $24$  à  $72\text{ }\mu\text{m}$ . Ils renferment de nombreux chloroplastes annulaires avec deux à dix pyrénoides chacun.

Après fécondation, les filaments montrent de une à trois séries d'oospores disposées parallèlement à l'axe du filament. Les oospores, grossièrement sphériques, ont une paroi qui, en microscopie photonique, semble être ornementée d'un fin réseau irrégulier de bourrelets avec des granules ou même des verrues coniques aux intersections. Leur diamètre varie de  $11$  à  $36\text{ }\mu\text{m}$ .

Le M.E.B. confirme l'existence du réseau de bourrelets (fig. 7 à 10). L'épaisseur de ces derniers ne dépasse jamais  $1\text{ }\mu\text{m}$  tandis que leur hauteur peut atteindre jusqu'à  $2\text{ }\mu\text{m}$  (fig. 8 et 9) entre autre aux niveaux des intersections. Les plages libres délimitées par les bourrelets apparaissent totalement lisses (fig. 8 et 9). Leur nombre varie de sept à dix pour une surface de  $10\text{ }\mu\text{m}^2$ .

**Remarques écologiques.** — La rizière dans laquelle les deux algues étudiées ont été récoltées est située dans la région du delta de l'Ebre, dans le N.E. de l'Espagne. La carte fournie précise la localisation de la station et les différents types de végétation environnants. La rizière est généralement mise en eau au début du mois de mai. Environ trois semaines plus tard, on constate une prolifération d'algues surtout filamenteuses qui se traduit par des fleurs d'eau ou «blooms». Parmi les algues qui se développent, deux genres sont prédominants. Il s'agit, d'une part, de *Sphaeroplea* Ag. (Ulotrichophycées, Sphaeropléales) avec trois espèces : *S. africana*, *S. annulina* et *S. wilmani* et d'autre part d'*Hydrodictyon* Roth (Chlorophycées, Chlorococcales) avec l'unique espèce ici, *H. reticulatum* (L.) Lagerh. Deux à trois semaines après la prolifération algale, l'eau de la rizière apparaît tachée de rouge vif. Cette coloration correspond à la production

massive d'oospores mûres du genre *Sphaeroplea*. A ce stade de développement algal massif, les agriculteurs interviennent par des traitements phytosanitaires à l'aide d'herbicides ou d'algicides pour éliminer cette végétation excessive censée porter préjudice à la croissance du riz.

Au mois de septembre, c'est-à-dire à la fin de la culture du riz, une autre fleur d'eau se développe avec principalement des Euglénophytes et des algues vertes parmi lesquelles *Hydrodictyon reticulatum* ainsi que deux filamenteuses, *Cladophora fracta* (Müll. ex Vahl) Kütz. et *Pithophora oedogonia* (Mont.) Wittr. pour les Chlorophycées et quelques espèces du genre *Spirogyra* Link pour les Zygothécées.

*Sphaeroplea africana* et *S. annulina* ont été trouvées dans cette rizière le 19 mai 1985 accompagnés, entre autres, de *Chara vulgaris* L., *Cladophora fracta*, *Cosmarium botrytis* Menegh., *C. laeve* Rabenh., *Monoraphidium* sp., *Oedogonium* sp., *Scenedesmus acutus* Meyen, *Sc. ecornis* (Ehrbg.) Chodat, *Spirogyra parvula* (Transeau) Czurda et *Spirogyra* sp. pour les Chlorophytes et *Nitzschia* sp. ainsi que *Surirella ovata* Kütz. pour les Chromophytes.

La flore phanérogamique qui se développe en abondance dans la rizière et qui la caractérise est composée des taxons suivants : *Alisma plantago-aquatica* L., *Bergia aquatica* Roxb., *Cyperus difformis* L., *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv., *E. oryzicola* (Vasinger) Vasinger, *E. orizoides* (Ard.) Fritsch, *Lemna minor* L., *Lidernia dubia* (L.) Pennell, *Najas gracillima* (A. Braun ex Engelm.) Magnus, *N. minor* Allioni, *Oriza sativa* L., *Paspalum paspalodes* (Michx.) Scribner, *Potamogeton nodosus* Poiret in Lam., *Scirpus maritimus* L. et *S. mucronatus* L.

Enfin, les données physico-chimiques de l'eau de la rizière (enregistrées le 19 mai 1985 à 17 heures), fournies dans le tableau I, font ressortir un pH assez élevé (= 9,7), une bonne oxygénation du milieu (9,4 mg/l) et une faible eutrophisation.

Tableau I : données physico-chimiques de l'eau de la rizière

pH : 9,7;  $t^{\circ}$  : 29,2°C;  $O_2$  : 9,4 mg/l; Conductivité : 2650,0  $\mu$ S/cm;  $PO_4^{3-}$  : 1,43  $\mu$ g-at/l;  $NO_3^{-}$  : 0,41  $\mu$ g-at/l;  $NO_2^{-}$  : 0,045  $\mu$ g-at/l;  $NH_4^{+}$  : 0,45  $\mu$ g-at/l;  $SO_4^{2-}$  : 997,75 mg/l;  $Cl^{-}$  : 730,0 mg/l; Alcalinité : 0,65 meq/l; Mg : 78,6 mg/l; Ca : 386,3 mg/l; K : 1,41 mg/l; Na : 463,0 mg/l.

## CONCLUSIONS

La découverte de *Sphaeroplea africana* en Espagne est une nouveauté algologique intéressante, cette espèce n'étant signalée jusqu'à présent, à notre connaissance, que du continent africain et, qui plus est, du sud de l'Afrique. Elle vient s'ajouter aux trois autres déjà mentionnées en Espagne, à savoir, *S. annulina*, *S. crassisepta* et *S. wilmani*.

Les micrographies que nous obtenons à l'aide du M.E.B. correspondent aux dessins fournis par Fritsch (1918) pour cette espèce à la fois par le contour, les

dimensions et l'aspect superficiel des oospores. Nos documents sont en même temps les premiers fournis pour les oospores de *S. africana* et de *S. annulina*. Ils complètent ainsi la connaissance acquise jusqu'ici de la paroi des oospores de ce genre, avec les travaux de Sarma (1974) à propos de *S. chapmanii* Sarma, de Tracanna & Couté (1982) sur *S. soleirolii* (Duby) Montagne ex Kütz. var. *soleirolii*, *S. soleirolii* var. *simplex* Tracanna & Couté et *S. wilmani* var. *tucumanensis* Tracanna, de Buchheim & Hoffman (1985) concernant *S. robusta* Buchheim et Hoffman, de Hoffman (1986) pour *S. tenuis* Fritsch et, enfin, de Buchheim et Hoffman (1987) au sujet d'une nouvelle espèce, *S. fragilis*.

En ce qui concerne nos documents sur les oospores de *S. annulina*, il faut reconnaître qu'ils correspondent bien à ceux donnés, entre autres, par Gauthier-Lièvre (1941), mais ils sont plus difficiles à rapprocher de la figure 5 I fournie par Fritsch (1929, p. 13). Toutefois, ils rappellent assez bien la figure 6 G de ce même auteur (1929, p. 15). Ils sont assez voisins aussi de la micrographie au M.E.B. de Tracanna & Couté (1982, pl. II, fig. 1) signalée comme étant une forme juvénile d'oospore de *S. wilmani* var. *tucumanensis* Tracanna, mais ■ distinguent nettement des formes matures. Ils sont également assez semblables aux images obtenues au M.E.B. par Sarma (1974) à propos de *S. chapmanii* dont les oospores présentent aussi un réseau de bourrelets. Toutefois, deux caractères distinguent nettement *S. chapmanii* de *S. annulina* (si tant est que l'on puisse ■ référer totalement aux documents de Sarma, les oospores étant toujours collapsées en raison de l'absence de traitement au point critique). Chez *S. chapmanii*, les bourrelets sont plutôt des crêtes et les plages libres entre ces dernières ne sont pas lisses. Cette espèce est d'ailleurs très proche de *S. robusta* décrite récemment par Buchheim & Hoffman (1985). Les oospores ont été étudiées par ces auteurs à l'aide du M.E.B. Les micrographies obtenues sont très similaires à celles des oospores de *S. chapmanii* de sorte que la réalité de l'espèce *robusta* nous semble plus que discutable.

La nouvelle espèce décrite récemment par ces mêmes auteurs, *S. fragilis* Buchheim & Hoffman (1987), nous semble d'ailleurs aussi fondée ■ des critères difficilement acceptables tels que la fragilité des thalles, la variabilité de l'épaisseur des cloisons séparant les articles ou encore la précocité du développement sexuel. De plus, les électronographies fournies par ces auteurs rappellent beaucoup celles données pour *S. wilmani* var. *tucumanensis* par Tracanna & Couté (1982) qui mentionnent déjà à ce propos (p. 75) : «un ordonnancement variable du réseau» de crêtes «selon les échantillons et, probablement l'état de maturation. . .».

Enfin, les «vrilles» ou «cirri» décrites par Buchheim & Hoffman (1987) ■ par Hoffman & Buchheim (1987) comme des appendices de certaines oospores des genres *Atractomorpha* Hoffman et *Sphaeroplea* Agardh nous paraissent constituées d'un matériel différent de celui de la paroi. Il pourrait bien s'agir d'artefacts. Une analyse chimique par microsonde ou, mieux, une étude de coupes ultrafines à l'aide du M.E.T. (microscope électronique à transmission) permettrait de trancher ce point qui, à notre avis, ne peut actuellement intervenir comme argument taxinomique.

Pour effectuer une révision définitive du genre *Sphaeroplea* et apporter la preuve, si cela est encore nécessaire, de l'intérêt de l'ornementation pariétale des oospores comme caractère taxinomique, il reste à étudier au M.E.B. deux espèces et leurs éventuelles variétés, à savoir, *S. crassisepta* et *S. tricarinata* Gauthier-Lièvre. L'espèce *S. cambrica* Fritsch considérée par Bourrelly & Feldmann (1946) comme synonyme de *S. soleirolii* (Duby) Montagne ex Kütz. n'est pas à prendre en compte ici. Cette étude pourrait peut être régler aussi le cas de *S. crassisepta* variété de *S. annulina* décrite par Heinricher (1883) et élevée au rang d'espèce par Klebahn (1899).

#### REMERCIEMENTS

Nous adressons nos vifs remerciements à Monsieur le Professeur Antoni Farràs qui a récolté les échantillons de *Sphaeroplea* et qui nous a fourni les données sur la flore de la rizière concernée. Nous sommes également reconnaissants envers Madame E. Forès pour l'aide qu'elle nous a apportée et pour les données physico-chimiques qu'elle nous a aimablement fournies.

#### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALVAREZ COBELAS M., 1986 — Catálogo de las algas continentales españolas, IV. *Acta Bot. Malacitana* 11 : 17-38.
- BOURRELLY P. & FELDMANN J., 1946 — Une algue méconnue : *Sphaeroplea soleirolii* (Duby) Montagne. *Bull. Mus.*, 2e sér. 18 (5) : 412-415.
- BUCHHEIM M.A. & HOFFMAN L.R., 1985 — *Sphaeroplea robusta* n. sp., a new member of the Sphaeropleaceae (Chlorophyceae) from Texas. *Trans. Amer. Microscop. Soc.*, 104 (2) : 178-187.
- BUCHHEIM M.A. & HOFFMAN L.R., 1987 — Structure and reproduction of *Sphaeroplea fragilis* sp. nov., a new member of the Sphaeropleaceae (Chlorophyceae) from California. *Canad. J. Bot.* 65 (11) : 2330-2337.
- CAMBRA J., 1985 — Check-list de les cianofícies, algues d'aigua dolça i del plàncton marí dels Països Catalans. In : LLIMONA X. et al., *Historia Natural dels Països Catalans*. Vol. 4 : 501-527. Enciclopèdia Catalana Ed. Barcelona, 558 p.
- FRITSCH F.E., 1918 — Contributions to our knowledge of the freshwater algae of Africa. *Ann. S. African Mus.* 9 (7) : 483-611.
- FRITSCH F.E., 1929 — The genus *Sphaeroplea*. *Ann. Bot.* 43 (169) : 1-26.
- GAUTHIER-LIEVRE L., 1941 — Algues des eaux continentales africaines. 1. Algues du Sahara septentrional et central. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afrique N.* 32 : 79-125.
- HEINRICHER E., 1883 — Zur Kenntnis der Algengattung *Sphaeroplea*. *Ber. Deutsch. Bot. Gesel.* 1 : 433.
- HOFFMAN L.R., 1986 — Zygotes of *Sphaeroplea tenuis* (Chlorophyceae). *Brit. Phycol. J.* 21 : 115-123.
- HOFFMAN L.R. & BUCHHEIM M.A., 1987 — Cirri, a new structure relating to zygote

- morphology in the Sphaeropleaceae. *J. Phycol.* 23 : 15 (Abstr.).
- KLEBAHN H., 1899 — Die Befruchtung von *Sphaeroplea annulina*. *Festschr. f. Schwend.* Berlin : 81-103.
- MARGALEF R., 1944 — Datos para una flora de nuestras aguas dulces. *Publ. Inst. Bot. Barcelona* 4 : 1-130.
- MARGALEF R., 1947 — Estudios sobre la vida en las aguas continentales de la region endorreica manchega. *Publ. Inst. Biol. Aplicada* 4 : 5-51.
- MARGALEF R., 1952 — Materiales para la hidrobiologia de la isla de Menorca. *Publ. Inst. Biol. Aplicada* 11 : 5-112.
- PERERA M. & CAMBRA J., 1986 — *Sphaeroplea wilmani* Fritsch, en una bassa temporal al littoral del Garraf (Barcelona). *Fol. Bot. Misc.* 5 : 129-133.
- SARMA P., 1974 — Light and scanning electron microscopic study of a new species of *Sphaeroplea* from New Zealand. *Nova Hedwigia* 25 : 475-501.
- TRACANNA B. & COUTÉ A., 1982 — Étude au microscope électronique à balayage de la paroi des oospores de deux espèces et d'une variété nouvelle du genre *Sphaeroplea* Ag. (Chlorophytes, Ulotrichophyceae, Sphaeropleales). *Cryptogamie, Algol.* 3 (1) : 71-79.



# ACTION DE LA PHOTOPÉRIODE ET DE LA TEMPÉRATURE SUR LA RAMIFICATION CHEZ *BACHELOTIA ANTILLARUM* (PHAEOPHYCEAE, ECTOCARPALES)\*

Sanaa SHANAB\*\* et Mahmoud Hafez ABDEL-RAHMAN\*\*\*

**RÉSUMÉ.** — Des thalles de type filamenteux hétérotriche de la Phéophycée *Bachelotia antillarum* (Grunow) Gerloff ont été soumis à différentes conditions d'éclairement et de température afin de préciser l'action de ces facteurs sur l'induction des ramifications à partir des filaments rampants principaux (FRP) qui forment des filaments rampants secondaires (FRS) et des filaments dressés (FD).

L'induction des FD a lieu dès les plus bas niveaux d'énergie lumineuse et s'accroît parallèlement à cette dernière. Celle des FRS, au contraire, connaît un seuil. Sous éclairement isoquantique, le pouvoir de ramification est réduit en héméro périodes courtes et stimulé par les éclaircissements de longue durée. Ceci démontre l'existence d'une héméro période critique. On démontre qu'il existe également une phase d'induction de la ramification, constituée par trois cycles de jours longs, et que le pouvoir de ramification est significativement stimulé par une prolongation de l'éclairement trophique par une lumière d'appoint faiblement énergétique. Le phénomène de ramification est donc, chez cette espèce, sous un contrôle photopériodique de jour long. La température n'a pas d'action significative sur la ramification.

**SUMMARY.** — Heterotrichous filamentous-type thalli of the Phaeophyceae *Bachelotia antillarum* (Grunow) Gerloff have been subjected to different irradiance and temperature conditions in order to precise the action of these factors on the branching induction from the principal prostrate filaments (FRP) which form secondary prostrate filaments (FRS) and erect ones (FD).

The induction of the FD occurs since very low irradiance and increases parallelly with its augmentation. On the contrary, that of the FRS has a threshold irradiance. Under isoquantic irradiance, the branching potential is reduced in short light periods and stimulated in light periods of long duration. This indicates the existence of a critical light period. An induction phase of three long days is demonstrated and the branching potential is significantly stimulated by the prolongation of the trophic light period by a complementary light period of very low irradiance. Therefore, the branching phenomenon, for this species, is under a photoperiodic control of long days. Temperature has no significant action on the branching.

\* Ce travail fait partie d'une Thèse de Doctorat d'État soutenue le 10 juillet 1985 devant l'Université Pierre et Marie Curie (Paris VI).

\*\* Département de Botanique, Faculté des Sciences, Université du Caire, Egypte.

\*\*\* Laboratoire de Biologie Végétale Marine, Université Pierre et Marie Curie, 7, quai Saint-Bernard, 75252 Paris Cedex 05, France (adresse pour la correspondance).

MOTS CLÉS : morphogenèse, ramification, photopériodisme, température, *Bachelotia antillarum*, Phéophycées.

## INTRODUCTION

L'étude de l'action des facteurs externes sur la ramification des systèmes filamenteux n'a que rarement fait l'objet de travaux distincts, car elle a le plus souvent été menée de front avec celle de la croissance. Les deux phénomènes sont en fait fréquemment intriqués, et les expériences entreprises pour comprendre l'un apportent des éléments qui concernent l'autre, avec toutefois l'inconvénient que les actions respectives de chacun d'eux sont en pratique le plus souvent difficilement séparables.

Nos connaissances sur la ramification des systèmes filamenteux ont beaucoup progressé grâce à l'utilisation de certains matériels expérimentaux favorables, en particulier les prothalles de Ptéridophytes depuis Mohr (1963), le protonema des Mousses (Larpen-Gourgau, 1969), et surtout le mycélium des Champignons (Larpen *et al.*, 1971).

Bien qu'ayant beaucoup profité des acquisitions réalisées chez d'autres types de végétaux, les travaux relatifs aux algues sont en nombre encore restreint. On peut en dégager que, tout d'abord, la ramification est sensible à l'énergie fournie; corrélativement, elle est dépendante de l'appareil photosynthétique. Ceci est confirmé par la superposabilité du spectre d'action photosynthétique au spectre d'action de la ramification au moins chez les Chlorophytes-Chaetophorales (Larpen-Gourgau *et al.*, 1971a, 1971b), par l'inhibition totale de la ramification par le DCMU chez la Chromophyte *Vaucheria* (Aberg, 1978), et aussi par l'action de radiations oligochromatiques appliquées en éclaircissements d'appoints faiblement énergétiques, qui est d'autant plus efficace que la longueur d'onde considérée coïncide avec les zones d'absorption majeures du système photosynthétique (Larpen-Gourgau & Larpen, 1973). Une autre preuve en est, que le pouvoir de ramification augmente avec l'énergie de l'éclaircissement (Larpen, 1968; Larpen-Gourgau & Larpen, 1973) et qu'il semble, d'après certains résultats de travaux portant essentiellement sur la croissance, être favorisé par les héméroperiodes longues.

En fait, il n'existe encore que trois contributions montrant une influence de la photoperiode sur un phénomène pouvant être assimilé à une ramification : la formation de la partie dressée d'une fronde à partir d'une base rampante, mais chez des formes parenchymateuses (*Scytosiphon lomentaria* : Dring & Lüning, 1975) ou cladomiennes (*Calosiphonia vermicularis* : Gayral & Mayoub, 1981; *Dumontia contorta* : Rietema, 1982); mais seuls les travaux de Dring & Lüning ont effectivement apporté la preuve que le phénomène étudié est véritablement de nature photopériodique.

Un certain nombre de travaux récents, dont l'évocation n'est pas nécessaire ici et qu'on trouvera passés en revue par Dring & Lüning (1983), ont envisagé l'action de radiations monochromatiques sur certaines étapes de la morphoge-



nèse. Les résultats obtenus dans ce domaine chez *B. antillarum* ont fait l'objet d'une récente publication (Shanab, Jacques & Magne, 1988).

Il semble que, jusqu'à présent, aucun travail n'ait entrepris l'étude de l'action de la température sur la ramification chez une algue.

Le thalle de *Bachelotia antillarum* (Grunow) Gerloff, d'une architecture à la fois simple et claire et d'une culture aisée, a paru un bon matériel pour tenter de préciser, chez une forme d'organisation élémentaire, la sensibilité du phénomène de ramification à l'action de certains facteurs externes tels que la quantité de lumière et la température.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel vivant qui a été utilisé est issu de la souche n° 77 de l'algothèque du Laboratoire de Biologie Végétale Marine.

La constitution du thalle de *B. antillarum* a été précédemment exposée (Shanab & Abdel Rahman, 1988, figure 1 A). Il suffit ici de rappeler qu'il est de type nématothallien (Chadefaud, 1969) hétérotriche; il comporte des filaments rampants principaux (FRP) qui donnent naissance d'une part à des filaments rampants secondaires (FRS), d'autre part à des filaments dressés (FD) verticaux non ramifiés.

Les expériences qui ont été entreprises pour l'étude de la ramification, ainsi que les conditions dans lesquelles elles ont été exécutées, sont les mêmes que celles qui ont été mises en œuvre pour l'étude parallèle de la croissance dont les résultats ont été publiés (Shanab & Abdel Rahman, 1988). Il convient donc, pour l'exposé de celles-ci, de se reporter à ce dernier travail.

Les résultats ont été, comme au cours de l'étude de la croissance (*loc. cit.*), basés sur la comparaison des dessins des sujets expérimentaux exécutés avant et après expérience.

Les paramètres qui ont paru le mieux exprimer et quantifier les caractéristiques de la ramification sont :

— le pouvoir d'initiation de FRS par les FRP; il peut être exprimé par les valeurs de la formule

$$\frac{R}{C} \times 100$$

dans laquelle

R = nombre de FRS nés sur les FRP durant un temps donné;

C = nombre de cellules néoformées sur les FRP durant ce même temps.

— le pouvoir d'initiation de FD par les FRP, soit :

$$\frac{D}{C} \times 100$$

expression dans laquelle

D = nombre de FD nés sur les FRP durant un temps donné

C = nombre de cellules néoformées sur les FRP durant ce même temps.

— le pouvoir de ramification des FRP, soit :

$$\frac{F}{C} \times 100 \left( = \frac{R + D}{C} = 100 \right)$$

F étant la somme des FRS et des FD formés.

C'est surtout de ce dernier paramètre, calculé à partir des deux précédents, qu'il sera question par la suite.

Dans toutes les expériences, les valeurs numériques ont été obtenues à partir d'objets expérimentaux comportant à chaque fois au moins 30 thalles, et assorties d'un intervalle de confiance calculé au risque de 5 %.

## RÉSULTATS

### 1. — Action quantitative de la lumière

Des thalles ont été cultivés dans des conditions variées d'intensité lumineuse et de photopériode. Les valeurs du pouvoir de ramification des FRP, calculées à partir des résultats obtenus, ont été traduites en histogrammes et regroupées sur la figure 1.

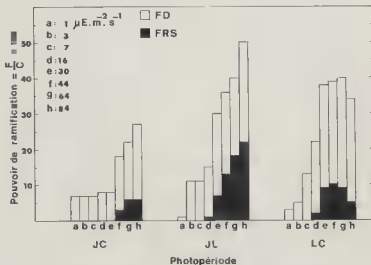


Figure 1 — Action de lumières d'intensité ■ de durée variées sur le pouvoir de ramification du thalle.

On peut en dégager plusieurs remarques.

Tout d'abord, on constate que les FD sont initiés à tous les niveaux d'énergie, quelle que soit la photopériode; ceci vient confirmer une hypothèse précédem-

ment émise (Shanab & Abdel Rahman, 1988). En jours courts (JC) le pouvoir d'initiation qui les concerne demeure approximativement constant aux faibles énergies (jusqu'à  $30 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) puis augmente pour des énergies supérieures. En jours longs (JL), il croît de façon sensiblement parallèle à l'accroissement d'énergie et ceci jusqu'aux plus hauts niveaux. Enfin, en lumière continue (LC), après avoir été tout d'abord progressivement stimulé (jusqu'à  $30 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ , là encore), il marque un plateau jusqu'aux plus fortes énergies.

Les FRS, au contraire, exigent pour leur initiation un niveau minimum d'énergie déjà assez élevé ( $16 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$  en JL et en LC;  $44 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$  en JC). Le pouvoir d'initiation qui les concerne demeure faible et se stabilise rapidement en JC; en JL, son accroissement est parallèle à celui de l'énergie fournie et en LC il est, comme pour les FD, stimulé au début puis rapidement stationnaire, marquant même une tendance à décroître sous les plus forts niveaux d'énergie.

D'une manière assez générale, les histogrammes relatifs aux JC et aux JL, ainsi qu'en LC pour les niveaux énergétiques les plus faibles tout au moins, montrent un certain parallélisme entre l'évolution du pouvoir de ramification et celui des niveaux d'énergie; la stabilisation de celui-ci en LC sous de fortes

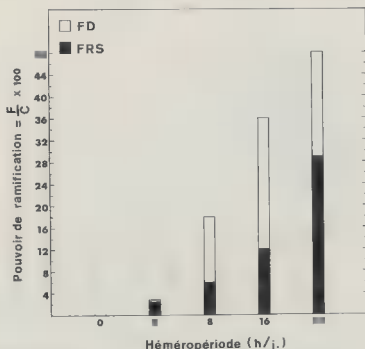


Figure 2 — Action de lumières d'héméropériodes variées et d'énergie isoquantique sur le pouvoir de ramification du thalle.

valeurs d'énergie conduit à penser que, sous ces conditions, un blocage interviendrait, correspondant à un seuil d'énergie maximum.

Pour vérifier cette hypothèse, on a étudié les variations du pouvoir de ramification en fonction de la photopériode et sous un éclairage isoénergétique.

Les valeurs obtenues, traduites en histogrammes, sont réunies sur la figure 2. Il apparaît sur celle-ci qu'aucune ramification n'a lieu à l'obscurité complète. D'autre part, le pouvoir de ramification est réduit en héméropériode très courte (4 h), surtout en ce qui concerne les FD pour lesquels il est presque nul. Pour des héméropériodes plus longues : 8 h (JC), 16 h (JL) et 24 h (LC), la ramification est stimulée à la fois au niveau des FD et des FRS, et ceci d'autant plus que l'héméropériode est plus longue. On peut donc conclure à la nécessité d'une héméropériode de 8 h ou plus.

Ceci semble indiquer que la ramification est sous contrôle photopériodique. Or on sait qu'un phénomène ne peut être considéré comme véritablement dépendant de la photopériode que s'il satisfait à trois exigences : 1) présenter une photopériode critique; 2) nécessiter une phase d'induction; 3) être stimulé par une prolongation de l'héméropériode trophique par un éclairage d'appoint d'énergie négligeable (Vince-Prue, 1975, pp. 70-93).

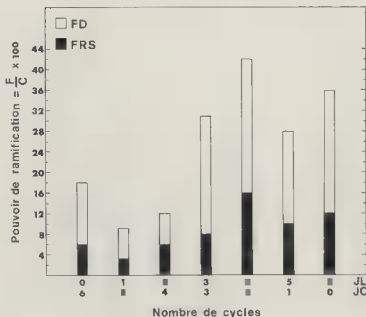


Figure 3 — Action du nombre de cycles de jour long (JL) sur le pouvoir de ramification du thalle (les JL sont suivis de jours courts (JC) en nombre complémentaire pour une durée totale de 6 jours; lumière isoquantique).

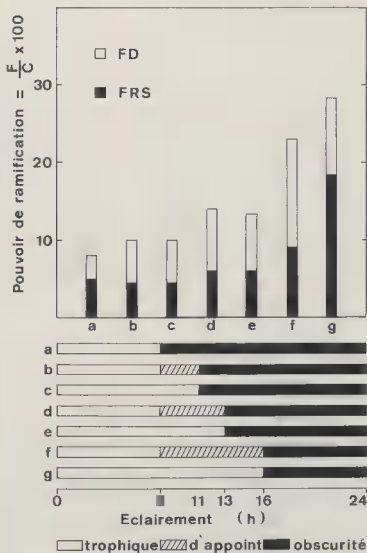


Figure 4 — Action d'un éclaircissement d'appoint ( $2 \mu\text{Em}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) de durée variable sur le pouvoir de ramification du thalle. Éclaircissement trophique : 8 h/jour,  $30 \mu\text{Em}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Déjà, on peut noter que la conclusion de l'expérience ci-dessus, selon laquelle une héméropériode de 8 h au moins est nécessaire, satisfait à la première.

Pour déterminer si les deux autres exigences sont elles aussi satisfaites, on a entrepris les expériences suivantes.

Au cours de la première, 7 lots de thalles homogènes ont été soumis à un éclairage (de type fluorescent « blanc brillant ») durant 6 cycles nycthémeraux comportant chacun 0, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 cycles de JL suivis respectivement de 6, 5, 4, 3, 2, 1 ou 0 cycle de JC, et d'une intensité telle que dans tous les cas la quantité d'énergie fournie a été constante et équivalente à  $20 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$  durant 16 h. Les résultats, traduits en histogrammes, constituent la matière de la figure 3. Ils montrent distinctement que 1 et 2 cycles de JL (suivis respectivement de 5 et 4 cycles de JC) sont insuffisants pour obtenir une stimulation comparable à celle des témoins (en JC et JL) mais que 3 et 4 cycles de JL déterminent une stimulation de la ramification du même ordre de grandeur que chez les témoins, ce qui satisfait la seconde exigence.

Une seconde expérience a consisté à soumettre des lots de thalles homogènes durant 7 jours à un éclairage de type BB d'énergie  $30 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$  durant 8 h par jour (lumière trophique) suivi d'une lumière d'appoint de même type mais d'énergie très faible ( $2 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) durant 3, ou 5, ou 8 h. Les résultats, sur la figure 4, montrent que la lumière d'appoint exerce une action stimulatrice sur le pouvoir de ramification, la durée optimum étant de 8 h.

La troisième exigence se trouve donc elle aussi satisfaite et le phénomène de la ramification peut, chez *B. antillarum*, être considéré comme véritablement dépendant d'une photopériode de jour long.

## 2.— Action de la température

Des lots de matériel homogène ont été soumis durant 6 jours à des éclairages de type BB, d'énergie variant de 1 à  $84 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$  et de photopériode JL, à des températures de 10, 15, 20 et  $25^{\circ}\text{C}$ .

Les résultats, exprimés en histogrammes, sont regroupés sur la figure 5. Ils montrent avec évidence que les ramifications dont sont issus les FD se produisent à toutes les températures et dès les niveaux énergétiques les plus faibles, alors que la formation des FRS ne commence qu'à partir d'un niveau d'énergie minimum ( $16 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) et, là encore, que la température soit haute ou basse.

Mais surtout, ils montrent que les résultats obtenus aux différentes températures sont sensiblement équivalents de l'une à l'autre; ainsi, la température est sans action sur la ramification, aussi bien lors de la formation des FRS que des FD.

## DISCUSSION

La conclusion la plus immédiate est que la ramification est dépendante de l'énergie, tout comme la croissance (cf. Shanab & Abdel Rahman, 1988). Toutefois, des deux facteurs qui la conditionnent : l'intensité et la durée, c'est le second qui exerce l'action la plus marquée.

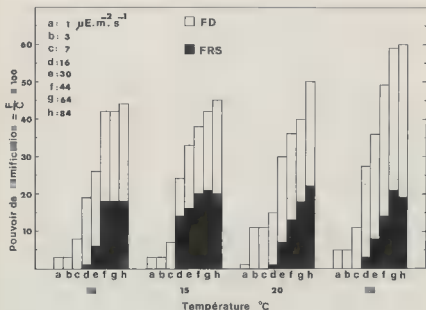


Figure 5 — Action de la température et de lumières d'intensité variée sur le pouvoir de ramification du thalle.

En effet, la ramification est favorisée par les longues héméroperiodes (figure 2), 8 h étant un minimum; cette réaction est en outre de nature photopériodique, de type jour long, puisqu'elle satisfait indiscutablement aux critères qui la définissent ainsi qu'on l'a démontré. Mais malgré cela, l'induction demeure possible en jours courts, à n'importe quel niveau d'énergie pour les FD et seulement aux plus intenses énergies pour les FRS (figure 1).

Chez une autre Phéophycée, *Scytosiphon lomentaria*, on a montré que la formation de frondes dressées sur la base rampante (qui peut être assimilée à la production de FD chez *B. antillarum*) est photopériode-dépendante et induite par les héméroperiodes courtes (Wynne, 1969; Dring & Lüning, 1975; Lüning, 1981). Toutefois, les souches originaires de Nouvelle Ecosse de la var. *complanatus* sont montrées au contraire insensibles à la photopériode et la production de leurs frondes dressées est seulement température-dépendante (Correa et al., 1986).

Le facteur intensité est plus difficile à cerner. L'induction des FD et celle des FRS n'ont pas les mêmes exigences. La première se manifeste dès les plus bas niveaux d'énergie, puis sa valeur augmente parallèlement à celle de cette dernière, jusqu'à un optimum (d'environ  $30 \mu E.m.s^{-1}$ ) suivi d'un palier de saturation; les conditions expérimentales employées n'ont pas permis de déterminer

si une inhibition lui succède, mais c'est tout à fait plausible. La seconde, au contraire, ne se produit qu'à partir d'un certain seuil d'énergie, de l'ordre de  $16 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ; sa valeur s'accroît ensuite en fonction de l'intensité, tout au moins dans les conditions optimales de photopériode. On constate en effet que, dans les conditions de JC et de LC, se produit un blocage décelé par le faible rendement des éclaircissements de forte énergie qui peuvent même, dans le cas de LC, devenir inhibiteurs (fig. 1). Cette inhibition, qui affecte également la croissance dans des conditions comparables (Shanab & Abdel Rahman, 1988, fig. 2 et 3), paraît être une conséquence d'un excès de lumière plus qu'une action spécifique de la lumière continue; on l'a retrouvée en effet au cours d'autres expériences (*o. c.*, fig. 4).

Ce n'est donc, en définitive, que dans un éventail assez étroit que se manifeste la sensibilité de la ramification à l'intensité de l'éclaircissement.

La dépendance — même limitée — de la ramification vis-à-vis de l'énergie, qui vient d'être mise en évidence ici, ainsi que la dépendance de la croissance vis-à-vis de ce même facteur (Shanab & Abdel Rahman, 1988), ont pour corollaire un contrôle de ces deux phénomènes par l'appareil photosynthétique. Les quelques travaux qui ont été jusqu'à présent consacrés à la ramification des algues filamenteuses n'ont guère envisagé le problème que sous ce dernier aspect et l'ont abordé par le moyen de l'action de radiations plus ou moins monochromatiques. Il n'est donc pas possible de discuter ici leurs résultats en les confrontant à ceux du présent travail. L'étude de l'action de telles radiations sur la ramification, ainsi que sur la croissance de *B. antillarum*, a toutefois été entreprise et les résultats discutés au cours d'une autre publication (Shanab, Jacques & Magne, 1988).

## REMERCIEMENTS

Nous remercions très vivement M. le Professeur F. Magne pour l'aide patiente et si aimable qu'il a bien voulu nous prodiguer, tant au cours de la rédaction de cet article que de l'expérimentation effectuée sous sa direction.

## BIBLIOGRAPHIE

- ABERG H., 1978 — Light and branch formation in the alga *Vaucheria dichotoma* (Xanthophyceae). *Physiol. Pl. (Copenhagen)* 44 : 224-230.
- CHADEFAUD M., 1969 — La morphologie des végétaux inférieurs : données fondamentales et problèmes. *Soc. Bot. France, Mem.* 115 : 5-41.
- CORREA J., NOVACZEK I. & McLACHLAN J., 1986 — Effect of temperature and day-length on morphogenesis of *Scytosiphon lomentaria* (Scytosiphonales, Phaeophyta) from eastern Canada. *Phycologia* 25 (4) : 469-475.
- DRING M.J. & LÜNING K., 1975 — A photoperiodic response mediated by blue light in the brown alga *Scytosiphon lomentaria*. *Planta* 125 : 25-32.



- DRING M.J. & LÜNING K., 1983 — Photomorphogenesis of marine macroalgae. p. 545-568. In : *Photomorphogenesis, Encyclopedia of plant physiology*, vol. 16B. Springer Verlag, Berlin.
- GAYRAL P. & MAYOUB H., 1981 — Influence of some factors on the development of *Calosiphonia vermicularis*. *Proc. Int. Seaweed Symp.* ■ : 98-105.
- LARPENT J.P., 1968 — Croissance et morphogénèse du thalle de *Draparnaldia mutabilis*. Étude préliminaire. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.* 266D : 1476-1478.
- LARPENT J.P., AUVITY M., BORROD G., BRÉT J.P., DUPONT G., FEVRE M. & TRAYNARD T., 1971 — Croissance, ramification et différenciation cellulaire du thalle des champignons. *Soc. Bot. France, Mém.* : 5-18.
- LARPENT-GOURGAUD M., 1969 — Déterminisme de la ramification et du bourgeonnement chez le protonéma des Bryales. *Ann. Sci. Nat., Bot. Biol. Vég.*, 12e sér., 10 : 1-102.
- LARPENT-GOURGAUD M., LARPENT J.P. & JACQUES R., 1971a — Croissance et ramification des thalles du *Caespitella pascheri*, du *Chlorhormidium flaccidum* et du *Draparnaldia mutabilis* cultivés en radiations monochromatiques. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.* 272D : 815-818.
- LARPENT-GOURGAUD M., LARPENT J.P. & JACQUES R., 1971b — Action de la lumière sur la croissance des thalles de *Caespitella pascheri*, du *Draparnaldia mutabilis* et du *Stigeoclonium farctum*. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.* 272D : 2888-2891.
- LARPENT-GOURGAUD M. & LARPENT J.P., 1973 — Lumière ■ morphogénèse du thalle de l'*Acrochaetium* sp. (Rhodophytes). *Experientia* 29 : 1160-1162.
- LÜNING K., 1981 — Photomorphogenesis of reproduction in marine macroalgae. *Rev. Deutsch. Bot. Ges.* 94 : 401-417.
- MOHR H., 1963 — The influence of visible radiations on the germination of archegoniate spores and the growth of the fern protonema. *J. Linn. Soc. (Bot.)*, 58 : 287.
- RIETEMA H., 1982 — Effects of photoperiod and temperature on macrothallus initiation in *Dumontia contorta* (Rhodophyta). *Mar. Ecol., Progr. Ser.* 8 (2) : 187-196.
- SHANAB S. & ABDEL RAHMAN M., 1988 — Action de la photopériode sur la croissance chez *Bachelotia antillarum* (Phaeophyceae, Ectocarpales). *Cryptogamie, Algol.* 9 : 87-100.
- SHANAB S., JACQUES R. & MAGNE F., 1988 — Croissance et ramification du thalle de *Bachelotia antillarum* (Phaeophyceae, Ectocarpales) cultivé en éclaircissements monochromatiques. *Plant Physiol. Biochem.* 26 (3) : (sous presse).
- VINCE-PRUE D., 1975 — Photoperiodism in plants. McGraw-Hill, London.
- WYNNE M.J., 1969 — Life history and systematic studies of some pacific north american Phaeophyceae. *Univ. Calif. Publ. Bot.* 50 : 1-80.



# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES RAPPORTS ENTRE LES MACROALGUES ET *GAMBIERDISCUS TOXICUS* (DINOPHYCEAE), AGENT CAUSAL DE LA CIGUATERA

Katia SAINT-MARTIN\*, Monique DURAND-CLÉMENT\*\* et Patrick BOURDEAU\*\*\*

**RÉSUMÉ** — En confrontant en culture des individus de *Gambierdiscus toxicus* Adachi et Fukuyo à diverses macroalgues appartenant aux Chloro-, Phéo- et Rhodophycées, on constate que toutes celles-ci exercent sur la Dinophycée une forte attraction, indépendante de leur position systématique et persistant lorsque leurs cellules sont tuées.

**ABSTRACT** — Contribution to the study of the relations between macroalgae and *Gambierdiscus toxicus*, Dinophyceae responsible for ciguatera.

Macroalgae belonging to six species of Chloro-, Phaeo- and Rhodophyceae have been placed in culture of the dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* Adachi et Fukuyo. They all exert a strong attraction on them. This attraction has no reference to their systematic position and is persisting if their cells are killed.

**MOTS CLÉS** : relations inter-organismes, ciguatera, macroalgues, *Gambierdiscus toxicus*, Dinophyceae.

## INTRODUCTION

La ciguatera, maladie grave consécutive à l'ingestion de poissons marins toxiques, sévit dans les mers intertropicales (Pacifique central et Mer Caraïbe) où elle est associée aux formations coralliennes. Elle y soulève de sérieux problèmes relatifs à la santé des habitants et à l'exploitation des ressources piscicoles, d'autant plus que poissons sains et poissons toxiques sont indiscernables. Il n'est donc pas surprenant que cette question ait reçu une attention de plus en plus marquée au cours de ces dernières années (Anderson & Lobel, 1987; Bourdeau, 1987).

On a montré (Bagnis *et al.*, 1977; Yasumoto *et al.*, 1977) que le principal agent causal primaire de cette maladie est une algue unicellulaire de la classe des Dinophyceae, *Gambierdiscus toxicus* Adachi et Fukuyo (GDT). Ingérée par

\* Laboratoire de Biologie Végétale Marine, 7 quai St-Bernard, 75230 Paris Cedex 05.

\*\* INSERM Unité 303, B.P. 3, 06230 Villefranche/Mer, France.

\*\*\* Laboratoire de Parasitologie, École Nationale Vétérinaire, 94704 Maisons-Alfort, France.

les animaux marins, elle leur communique sa toxicité. Elle semble présente à peu près partout en milieu corallien et elle peut pulluler à certaines occasions qui sont le plus souvent en rapport avec des perturbations du milieu entraînant la mort des coraux; il peut alors s'ensuivre une «flambée cigatérique» (Bagnis, 1971).

Bien que pourvu de deux flagelles, ce microorganisme est peu mobile; on le rencontre rarement en pleine eau mais plutôt auprès du fond ou de supports éventuels et en particulier au contact des algues pluricellulaires (désignées souvent par le terme de macrophytes ou de macroalgues; ce dernier sera utilisé ici). Au sein des populations naturelles, ainsi qu'en culture, très peu d'individus sont mobiles en même temps, la plupart se fixant au fond ou à un support à l'aide d'un filament de mucus.

L'association fréquente, dans la nature, des GDT et des macroalgues est un concept aujourd'hui très généralement admis, si bien que le contrôle des risques de ciguatera en région potentiellement ciguatérigène, qui repose sur l'appréciation de la fréquence des GDT, peut s'effectuer à partir de prélèvements de macroalgues dans lesquels on les recherche ensuite. Toutefois, la nature exacte et les caractéristiques de cette association restent encore à définir (Scheuer & Bagnis, 1985; Anderson & Lobel, 1987). Nous nous sommes attachés à ce problème. Une tentative pour déceler d'éventuels rapports entre la présence des GDT et celle de certaines espèces de macroalgues croissant sur des capteurs installés en milieu naturel, dans le but de mettre en évidence des associations préférentielles, n'a pas apporté de résultats concluants (Saint-Martin, 1987). Nous avons alors abordé la question de manière expérimentale, en confrontant *in vitro* des GDT en culture à des macroalgues elles aussi obtenues de cultures.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1. — Matériel vivant

Toutes les espèces sont à l'état de cultures unialgales.

— Les GDT proviennent d'une souche (Durand SB 04) isolée en 1986 sur la côte (baie du Gouverneur) de l'île Saint-Barthélemy (Antilles). Pour cela, diverses macroalgues ont été recueillies, placées dans un sac en plastique et ramenées à la surface. Les échantillons ont été fortement secoués afin de décrocher les organismes benthiques de leur support puis filtrés à travers une maille de 170  $\mu\text{m}$ . Au laboratoire, le surnageant a été éliminé après décantation, le dépôt remis en suspension dans de l'eau de mer stérile et filtré sur maille de 50  $\mu\text{m}$ . Les GDT, présents à raison de 0 à 100 individus par gramme de macroalgues humides, ont été triés un à un sous la loupe binoculaire et rincés par transfert dans des gouttes d'eau de mer stérile. La souche SB 04 est issue d'un échantillon initial de 200 cellules.

Les cultures sont entretenues par repiquages successifs dans le milieu Provasoli «maigre» (Magne, 1986) et maintenues à 26°C sous un flux lumineux issu

de tubes fluorescents de type «blanc industrie» d'une intensité de  $48 \mu\text{Em}^{-2} \text{s}^{-1}$  et selon une photopériode de 14 h par jour (Durand-Clément, 1987).

L'appréciation de la densité en individus d'une culture est faite de la façon suivante. On part de la culture préalablement homogénéisée par agitation; on en prélève une partie aliquote (0,5 ml) qu'on transfère dans un récipient de verre à fond plat et qu'on additionne de quelques gouttes de formol. Les GDT tombent au fond et, en s'aidant d'un papier quadrillé sur lequel est posé le récipient, il est aisé de les dénombrer sous la loupe binoculaire étant donné leur grande taille (70  $\mu\text{m}$  de diamètre en moyenne). Au cours de ce travail, chaque opération de dénombrement a été effectuée trois fois et la moyenne des résultats a été retenue comme résultat définitif.

A partir de cultures à forte densité en individus on a pu, par dilution, préparer les cultures de la densité nécessaire aux expériences. Ces dernières ont toujours été exécutées avec des cultures en phase exponentielle.

— Les macroalgues proviennent de capteurs installés en mer, à l'île Saint-Barthélémy également (Bourdeau, 1987); des fragments de ces capteurs, acheminés jusqu'au laboratoire (Paris) dans des conditions compatibles avec la vie des algues, ont constitué le point de départ de cultures unialgales d'un certain nombre d'espèces appartenant aux Chlorophycées, Phéophycées et Rhodophycées.

Seules ont été utilisées ici celles qui ont été reconnues favorables pour des raisons techniques touchant à l'évaluation de la surface des échantillons. Elles appartiennent aux espèces suivantes :

Chlorophycées : *Enteromorpha chaetomorphoides* Boergesen, *Cladophora* sp.

Phéophycées : *Dictyota divaricata* Lamouroux, *Dictyota* sp.

Rhodophycées : *Griffithsia schousboei* Montagne, *Ceramium* sp.

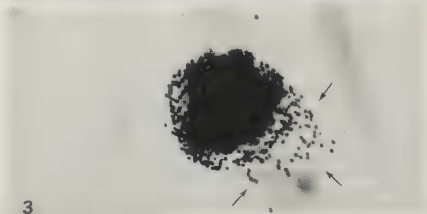
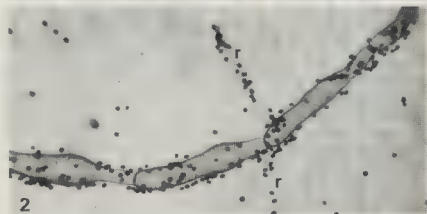
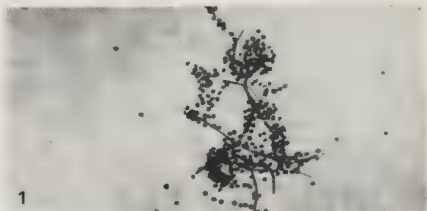
Ces macroalgues sont, elles aussi, entretenues en milieu de Provasoli «maigre», mais à 20°C, sous une lumière de type «blanc industrie» d'intensité  $16 \mu\text{Em}^{-2} \text{s}^{-1}$  et selon une photopériode de 12 h par jour.

## 2. — Déroulement des expériences

Le principe consiste à immerger un échantillon de macroalgue dans une suspension de GDT et à étudier comment se sont répartis les Dinoflagellés au bout d'un temps donné.

Un certain nombre de précautions ont été observées afin d'opérer dans des conditions toujours identiques. Toutes les confrontations ont débuté à la même heure (midi) et ont duré exactement 72 heures. Elles ont toujours été réalisées dans les conditions de culture des GDT; des essais préliminaires ont montré que ces conditions conviennent également aux macroalgues. Les suspensions de GDT utilisées ont toujours été de densité comparable (entre 500 et 600 individus par ml).

En début d'expérience, l'échantillon de macroalgue n'est introduit dans la suspension de GDT qu'après un repos de 30 minutes, ceci afin d'éviter que les



microorganismes, qui ont une forte tendance à sédimenter après avoir été mis en suspension à la suite d'une agitation (Durand, 1984), ne se déposent sur la macroalgue de façon purement passive.

En fin d'expérience, l'échantillon de macroalgue est retiré rapidement avec précaution et réservé. La fixation au formol, nécessaire pour immobiliser les GDT, n'intervient qu'ensuite. Nous avons en effet observé que la liaison macroalgue-GDT est très labile et que l'action du formol suffit à la rompre.

### 3. — Estimation des résultats

Après expérience, l'échantillon de macroalgue est fixé à l'eau formolée et agité vigoureusement; les GDT se détachent, sont recueillis puis dénombrés. Leur nombre est rapporté à la surface de l'échantillon de macroalgue qui est déterminée après dessin à la chambre claire. Le témoin est constitué par le fond du récipient de culture où l'on détermine le nombre de GDT par unité de surface.

## RÉSULTATS

L'expérience a été réalisée à quatre reprises pour *Cladophora* sp. et *Dictyota* sp., à cinq pour les autres espèces. Les résultats sont rassemblés sur le tableau I.

Il apparaît clairement, même en absence de traitement statistique des données, que les GDT se fixent de préférence sur des algues plutôt que sur des supports inorganiques (figure 1 et 2). Cette conclusion a été pleinement confirmée par des expériences complémentaires au cours desquelles des segments de fil de nylon, assimilables par leur forme et leur diamètre aux filaments de certaines des algues utilisées, ainsi que des cubes de gélose (bacto-agar à 1,5 %), ont été proposés comme supports aux GDT mais n'en ont pas attiré plus que le fond du récipient.

Certains résultats sporadiques sont, cependant, aberrants par rapport à l'ensemble (expériences 5 chez *Dictyota divaricata* et *Ceramium* sp.), le sujet n'ayant pas attiré plus de GDT que le témoin.

L'examen des sujets en fin d'expérience a montré que certaines parties des thalles semblent plus particulièrement attractives; ceci a été observé pour les rhizoïdes chez *Cladophora* sp. et *Griffithsia schousboei* (figure 2) et pour les apex chez *Dictyota* sp.

Figures 1 à 3 — Attraction exercée par des macroalgues sur les individus de *Gambierdiscus toxicus* (GDT) en culture; résultats observés 24 heures après introduction des macroalgues : le fond des récipients ne supporte plus que de très rares individus, la presque totalité de ceux-ci étant rassemblée au voisinage immédiat des macroalgues. 1 : touffe de *Cladophora* sp. - 2 : filament de *Griffithsia schousboei*; malgré leur faible taille, les rhizoïdes (r) ont attiré de nombreux individus. - 3 : pelote de thalle pilé de *G. schousboei*, entouré d'une gangue de GDT; la zone marquée de flèches représente la seule partie du fond où existent des GDT, démasqués par un déplacement de la pelote.

Macroalgue		Densité des GDT (en individus/mm <sup>2</sup> )	
espèce	surface	sur la macroalgue	sur le témoin
<u>Enteromorpha chaetomorphaeoides</u>	2,6	46,15	6,4
	2,7	56,66	7,5
	2,5	94,4	8
	2	136	3,84
	3,5	91,4	7,3
<u>Cladophora</u> sp.	4,8	71,2	6,2
	8	49,5	7,5
	2,8	128,5	7
	3,5	93,7	7,32
<u>Dictyota divaricata</u>	84,7	15,5	4,8
	32,2	17,11	8,8
	21,2	74,11	6
	19,4	72,83	4,4
	43	9,76	10
<u>Dictyota</u> sp.	52	14,03	5,9
	24,5	22,7	7,6
	8,16	72,5	8,6
	24	47,58	4,8
<u>Griffithsia schousboei</u>	45,5	35,2	7,2
	17,6	25,9	8,3
	48,2	40,58	6,8
	63	14,57	5,4
	21	35,42	3,64
<u>Ceramium</u> sp.	4,21	115,4	6,24
	7,4	41,3	7,4
	12	57	7
	12	78	4
	14	10,85	7,3

Tableau I — Répartition des GDT à l'issue de confrontations avec des macroalgues.

Il arrive également qu'une partie morte soit autant et même parfois davantage colonisée que les parties vivantes. Une expérience complémentaire, dans laquelle le sujet était constitué par du thalle de *Griffithsia schousboei* écrasé au pilon et aggloméré en une pelote, a confirmé cette constatation (figure 3).

## DISCUSSION

D'assez nombreux travaux font plus ou moins directement référence à l'association des GDT aux macroalgues. Celle-ci, qui conditionne vraisemblablement le développement de la Dinophycée dans la nature, conditionne aussi



l'efficacité des prélèvements destinés à contrôler sa présence dans les biotopes et de ce fait à contrôler l'extension des zones ciguatérigènes.

Or il existe une grande confusion concernant les modalités de cette association, ce qui se traduit par une disparité des opinions des différents auteurs et par des contradictions dans leurs résultats. Ainsi par exemple, pour Taylor (1985) les macroalgues les plus hospitalières aux GDT sont les formes ramifiées ou en touffes, tandis que pour Gillespie *et al.* (1985) la structure n'a aucune importance. Et, tandis que Bagnis (1981) trouve sur la Pheophycée *Turbinaria* des GDT en quantité considérable, Carlson *et al.* (1984) n'en observent que fort peu.

Les expériences réalisées ici montrent que les macroalgues exercent une attraction sur les GDT et que ceux-ci se fixent à elles, venant confirmer les observations de Bagnis (1981) qui a conclu à l'épiphytisme. Cette attraction est puissante ainsi qu'en témoignent dans leur ensemble les résultats obtenus ici. Ceux d'entre eux qui marquent une absence d'attraction et paraissent aberrants sont d'une interprétation difficile. Il ne semble pas possible de les mettre à l'actif de fluctuations car il n'existe pas d'intermédiaire entre eux et les autres résultats. On est plutôt tenté de les attribuer à la manifestation par GDT d'une sensibilité particulière à un facteur expérimental qui aurait échappé, malgré toutes les précautions prises. Il faut remarquer à ce propos que le comportement de GDT n'a été que très peu étudié et que l'on ignore encore actuellement presque tout de son éthologie.

L'attraction exercée par les macroalgues semble être indépendante du phylum auquel celles-ci appartiennent : une Chloro-, une Phéo- ou une Rhodophyte ont apparemment autant d'attrait l'une que l'autre pour GDT.

On ne sait encore rien du déterminisme de cette attraction. On est en droit de supposer qu'elle est en relation avec la production et la diffusion, par les macroalgues, d'une ou plusieurs substances recherchées par les GDT. Le travail de Carlson *et al.* (1984), montrant que des extraits de certaines macroalgues peuvent stimuler le développement des cultures de GDT, est un premier soutien à cette hypothèse. D'autre part le fait, rapporté plus haut, que la gélose n'est pas douée de pouvoir attractif, montre que celui qui est constaté chez les macroalgues est vraisemblablement dû à des substances de nature protoplasmique plutôt que pariétale.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs adressent leurs remerciements à Monsieur le Professeur F. Magne qui a guidé l'un d'eux (K. S.-M.) et est intervenu à plusieurs reprises au cours de ce travail ainsi qu'à Monsieur C. Bidoux et Mademoiselle C. Abélard pour de nombreux avis techniques et pour l'obtention des photographies, enfin à Monsieur F. Partensky pour la communication de documents.

## OUVRAGES CITÉS

- ANDERSON D.M. & LOBEL P.S., 1987 — The continuing enigma of ciguatera. *Biol. Bull.* 172 (1) : 89-107.
- BAGNIS R., 1971 — Activité humaine en milieu corallien et ciguatera. *Méd. Trop.* 31 (3) : 285-292.
- BAGNIS R., 1977 — *Modalités évolutives et biogenèse de la ciguatera en Polynésie française*. Thèse Doctorat ès Science, Bordeaux, 128 p.
- BAGNIS R., 1981 — *Étude morphologique, biologique, toxicologique et écologique de l'agent causal princeps de la ciguatera, le péridinien Gambierdiscus toxicus*. Thèse Biologie humaine, Université Bordeaux II.
- BAGNIS R., CHANTEAU S. & YASUMOTO T., 1977 — Mise en évidence d'un agent étiologique vraisemblable de la ciguatera. *Rev. Int. Oceanogr. Méd.* 45-46 : 29-34.
- BOURDEAU P., 1987 — Epidémiologie de la ciguatera aux Antilles (Saint-Barthélémy, Saint-Martin et Anguilla). *Rapport IFREMER*, 161 + 167 (annexes) + 22 (bibliog.) pages.
- CARLSON R.D., MOREY-GAINES G., TINDALL D.R. & DICKEY R.W., 1984 — Ecology of toxic dinoflagellates from the Caribbean Sea : Effects of macroalgal extracts on growth in cultures. In Raguelis E.P., Ed., *Seafood toxins*, Amer. Chem. Soc. Symp. n° 262, pp. 271-287.
- DURAND M., 1984 — *Étude biologique, cytologique et toxicologique de Gambierdiscus toxicus en culture, dinoflagellé responsable de la ciguatera*. Thèse 3e cycle, Université Paris VII.
- DURAND-CLÉMENT M., 1987 — Study of production and toxicity of cultured *Gambierdiscus toxicus*. *Biol. Bull.* 172 : 108-121.
- GILLESPIE N.C., HOLMES M.J., BURKE J.B. & DOLEY J., 1985 — Distribution and periodicity of *Gambierdiscus toxicus* in Queensland, Australia. In Anderson, White et Baden, Ed., *Toxic Dinoflagellates*, pp. 183-188.
- MAGNE F., 1986 — Anomalies du développement chez *Antithamnionella sarniensis* (Rhodophycées, Cérámiales). I : Formation et début du développement des tétraspores. *Cryptogamie, Algologie* 7 (2) : 135-147.
- SAINT-MARTIN K., 1987 — *Contribution à l'étude des rapports entre les macroalgues et Gambierdiscus toxicus (Dinophyceae), agent causal de la ciguatera*. Rapport DEA Océanologie biologique (Algologie), Univ. Paris 6, 10 p.
- SCHEUER P.J. & BAGNIS R., 1985 — Introduction au Symposium n° 10. *Proc. Int. Reef Congr.* 5, vol. 4 : 401-402.
- TAYLOR F.J.R., 1985 — The distribution of the benthic dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* in the eastern Caribbean. *Proc. Int. Reef Congr.* 5, vol. 4 : 423-428.
- YASUMOTO T., NAKAJIMA I., BAGNIS R. & ADACHI R., 1977 — Finding of a Dinoflagellate as a likely culprit of ciguatera. *Bull. Jap. Soc. sci. Fish.* 43 (8) : 1021-1026.

## THE LORAS COLLEGE NON-DIATOM FRESHWATER ALGAL CULTURE COLLECTION

David B. CZARNECKI\*

**ABSTRACT.** — In addition to housing a large culture collection of freshwater diatoms, Loras College also maintains ca. 225 cultures representing more than 125 genera of freshwater algae; the majority of these cultures are Chlorophytes and Cyanophytes. Of these cultures, more than 60 taxa are not presently available from the UTEX Culture Collection. These cultures are listed along with those of other taxa in which a recent research interest has been demonstrated.

**RÉSUMÉ.** — Avec une importante collection de diatomées d'eau douce, le Loras College maintient aussi 225 cultures représentant plus de 125 genres d'algues d'eau douce; les Chlorophytes et Cyanophytes constituent la majorité de ceux-ci. Parmi ces cultures plus de 60 taxa ne sont pas disponibles actuellement dans la collection des cultures UTEX. Ces cultures sont répertoriées ici avec celles des autres taxa pour lesquels l'intérêt de recherches récentes a été démontré. (traduit par la rédaction).

**KEY WORDS :** algal cultures, algae, collection, freshwater.

Recent and extensive interest in algal cultures has increased the demand for culture facilities throughout the world. Haines *et al.* (1982) have listed several of the more prominent collections. Notable among these is the Culture Collection of Algae at the University of Texas at Austin (UTEX) (Starr & Zeikus, 1987), particularly because of the large diversity of Chlorophyte and Cyanophyte cultures maintained there.

The Loras College culture collection of freshwater algae presently maintains ca. 500 cultures. Of these cultures, nearly 50 % are diatoms (Czarnecki 1987) and ca. 25 % have been isolated from a single locality, i. e., Lake Itasca State Park, Minnesota, USA (Czarnecki & Ross, 1988). The collection was initiated with approximately 100 cultures during the mid-1970s at Northern Arizona University and expanded while the author was at the Universities of Minnesota, Arkansas and Iowa State, hence the majority of isolates are from these states.

\* Department of Biology, Loras College, Dubuque, IA 52004-0178 USA.

Cultures are maintained in a variety of biphasic soil-water media, however cultures are sent in the liquid phase only. They are to be considered unialgal; most are of clonal origin. Czarnecki (1987) provides a more detailed protocol of isolation and culture procedures. Additional specific information regarding particular cultures is available on request.

The list of cultures presented below reflects only a small portion of those maintained by the Loras collection and includes only members of the Chlorophyta and Cyanophyta. The majority of those listed are of taxa not presently available from the UTEX collection (Starr & Zeikus, 1987); the others listed (designated by an «\*») are of taxa available through UTEX, but which have recently been investigated and/or may warrant further considerations at the «strain» level (e. g., Ben Amotz *et al.*, 1985; Lang *et al.*, 1987; Nichols & Bold, 1965).

Loras College provides major support for the maintenance and operation of the collection; however a user fee is assessed to help defray expenses. The following charges have been established for cultures obtained from the collection :

**Sponsored research (non-profit institutions and individuals)**

voluntary charge, \$ 10.00/culture

mandatory charge, \$ 7.50/culture

**Sponsored research (commercial)**

mandatory charge, \$ 20.00/culture

**Unsupported research (individuals)**

voluntary charge, \$ 7.50/culture

mandatory charge, \$ 4.00/culture.

Orders for cultures are accepted by letter or purchase order only. After cultures are sent, the purchaser will be sent an invoice indicating the appropriate charges. No postal fees are charged for deliveries to the United States, Canada or Mexico; foreign deliveries will be charged 50 % of actual postal costs. All cultures are sent First Class (Air Mail to foreign purchasers) via U. S. Postal Service.

Orders should be addressed to : Dr. David B. Czarnecki, Department of Biology, Box 322, Loras College, Dubuque, IA 52004-0178 USA. Payments should be made in U. S. Currency by check or bank draft to : Loras College Algal Culture Collection, payable to account No. 112274408.

It is not feasible for the collection to provide culture media in excess of that in which cells are shipped. Prolonged maintenance of cultures is therefore the responsibility of the user. Any publications which result from research using cultures obtained from the collection, should refer to the strain used and the collection as the source for the culture material.

### LIST OF CULTURES

Cultures are listed alphabetically by genus. Each culture is designated by code, taxon, isolater, date of isolation, and locale of initial isolation. Codes preceded by an «\*» indicate the taxon is also available through UTEX.

*Actinotaenium* (Näg.) Teiling

Z-17, *A. sp.*, D. Czarnecki, 30VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

*Anabaena* Bory

IS-26, *A. spiroides* var. *crassa* Lemm., D. Czarnecki, 20V82, Borrow Pit, U.S. 30, West Ames, Boone Co. IA.

*Apiocystis* Näg. in Kütz

GR-7, *A. brauniana* Näg., D. Czarnecki, V85, Peck's Lake, Yavapai Co., AZ.

*Artbrodesmus* Ehr.

Z-15, *A. convergens* Ehr. ex Ralfs, R. Meier, 25VI85, Lake Itasca, Itasca State Park, MN

Z-32, *A. validus* (West & West) Scott & Grönblad, D. Czarnecki, 27VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN.

*Botryococcus* Kütz.

\*CH-21, *B. braunii* Kütz., D. Czarnecki, 8182, Echo Lake bog, Burnett Co., WI.

\*CH-24, *B. braunii* Kütz., D. Czarnecki, 12VI82, West Lake Okoboji, Dickinson Co., IA.

\*CH-28, *B. braunii* Kütz., D. Czarnecki, 20VI84, North Deming Pond, Itasca State Park, MN.

\*CH-47, *B. braunii* Kütz., D. Czarnecki, 30VI86, North Deming Pond, Itasca State Park, MN.

*Chaetophora* Schrank

GR-21, *C. elegans* (Roth) Ag., D. Ongaro, 23VI85, LaSalle Creek, Itasca State Park, MN.

*Chroococcus* Näg.

IS-37, *C. prescottii* Drouet & Daily in Drouet, D. Czarnecki, 29VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN.

*Cosmarium* Corda

Z-30, *C. bisphaericum* Printz, D. Czarnecki, 27VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN.

Z-16, *C. subochthodes* Schmidle, K. Ebel, 23VI85, LaSalle Creek, Itasca State Park, MN.

Z-39, *C. tenue* Archer, D. Czarnecki, 27VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN.

*Cosmocladium* Bréb.

Z-42, *C. constrictum* (Archer) Archer, D. Czarnecki, 25VI86, Beaver Lake, Itasca State Park, MN.

Z-14, *C. pusillum* Hilse, D. Czarnecki, 11VI84, North Deming Pond, Itasca State Park, MN.

*Cylindrocapsa* Reinsch

GR-27, *C. geminella* Wolle, D. Czarnecki, 26V87, Spring Run, Dickinson Co., IA.

*Desmidium* Ag.

Z-41, *D. aptogonium* Bréb. in Bréb. & Godet, D. Czarnecki, 11VI86, North

Deming Pond, Itasca State Park, MN.

*Desmonema* Berkeley & Thwaites

IS-18, *D. wrangelii* (Ag.) Born. & Flah., D. Czarnecki, V77, West Fork, Oak Creek Canyon, Coconino Co., AZ.

*Docidium* Bréb.

Z-47, *D. baculum* Bréb. *emend.* Lund., D. Czarnecki, 6III87, North Deming Pond, Itasca State Park, MN.

*Draparnaldia* Bory

GR-23, *D. glomerata* (Vauch.) Ag., D. Czarnecki, 7VII85, Tank Flow, UM Station, Itasca State Park, MN.

*Euastrum* Ehr.

Z-38, *E. denticulatum* var. *denticulatum* (Kirch.) Gay, D. Czarnecki, 27VIII-85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

Z-18, *E. denticulatum* var. *quadrifarium* Krieger, D. Czarnecki, 27VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

*Eutetramorus* Walton

CH-41, *E. planctonica* (Korch.) Bourr., D. Czarnecki, 8VII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

*Geminella* Turpin

GR-16, *G. sp.*, D. Czarnecki, 19V82, Des Moines River at Co. E36, Boone Co., IA

*Gomphosphaeria* Kütz.

IS-4, *G. aponina* var. *cordiformis* Wölle, D. Czarnecki, V76, Montezuma Well National Monument, Yavapai Co., AZ

IS-35, *G. lacustris* Chodat, D. Ongaro, 29VI85, South Park Drive Pond, Itasca State Park, MN

*Hyalotheca* Ehr.

Z-45, *H. mucosa* (Mert.) Ehr. ex Ralfs, D. Czarnecki, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

*Johannesbaptista* De. T.

IS-29, *J. pellucida* (Dickie) Taylor & Drouet, D. Czarnecki, 6VIII82, Silver Lake Fen, Dickinson Co., IA

*Kirchneriella* Schmidle

CH-20, *K. lunaris* (Kirch.) Moebius, D. Czarnecki, 11VII87, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

*Lyngbya* Ag.

IS-39, *L. birgei* G. M. Sm., D. Czarnecki, 8VII86, Lake Itasca, Itasca State Park, MN

*Micractinium* Fresenius

CH-33, *M. pusillum* Fresenius, D. Czarnecki, 25VIII82, West Lake Okoboji, Dickinson Co., IA

CH-36, *M. pusillum* Fresenius, D. Czarnecki, 23V85, Frentress Lake, Mississippi River, Jo Daviess Co., IL

*Micrasterias* Ag.

Z-21, *M. crux-melitensis* (Ehr.) Ralfs, D. Czarnecki, 29VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

Z-19, *M. laticeps* Nordst., D. Czarnecki, 27VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

Z-20, *M. papillifera* Bréb. ex Ralfs, D. Czarnecki, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

*Nepbrocytium* Näg.

CH-50, *N. lunatum* W. West, D. Czarnecki, 3VII86, North Deming Pond, Itasca State Park, MN.

*Netrium* (Näg.) Itzsigsohn & Roth

ZZ-05, *N. interruptum* var. *sectum* West & West, D. Czarnecki, 27VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

*Oedogonium* Link

O-4, *O. undulatum* (Bréb.) Braun in De Bary, D. Czarnecki, 6III86, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

*Onychonema* Wallisch

Z-46, *O. laeve* var. *micracanthum* Nordst., D. Czarnecki, 19VII86, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

*Oscillatoria* Vaucher

IS-38, *O. limnetica* Lemm., D. Czarnecki, 30VI86, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

*Paulschultzia* Skuja

\*GR-20, *P. pseudovolvox* (Schulz) Skuja, K. Ebel, 19VII85, Lake Itasca, Itasca State Park, MN

\*GR-24, *P. pseudovolvox* (Schulz) Skuja, D. Czarnecki, 25VI85, Lake Itasca, Itasca State Park, MN

*Pectodictyon* Taft

\*CH-15, *P. cubicum* Taft, D. Czarnecki, 1182, Silver Lake Fen, Dickinson Co., IA

\*CH-31, *P. cubicum* Teft, D. Czarnecki, 4VII82, Des Moines River at Co. E36, Boone Co., IA

*Penium* Bréb.

Z-43, *P. cylindricus* (Ehr.) Bréb. ex Ralfs, D. Czarnecki, 21VI86, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

*Plectonema* Thuret

IS-24, *P. wollei* Farlow, D. Czarnecki, 9VII83, Lake Itasca, Itasca State Park, MN

*Pleurotaenium* Näg.

Z-33, *P. coronatum* (Bréb.) Rabenh., D. Czarnecki, 29VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

Z-35, *P. ehrenbergii* f. *relictum* Irénée-Marie, D. Czarnecki, 27VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

Z-22, *P. trabecula* var. *hutchinsonii* (Turner) Croas., D. Czarnecki, 29VIII85,

## North Deming Pond, Itasca State Park, MN

*Polyedriopsis* Schmidle

CH-26, *P. spinulosa* Schmidle, D. Czarnecki, 20V82, Des Moines River at Co. E36, Boone Co., IA

*Quadrigula* Printz

CH-16, *Q. closterioides* (Bohlin) Printz, D. Czarnecki, 11IX81, Webb Lake, Burnett Co. WI

CH-44, *Q. closterioides* (Bohlin) Printz, D. Czarnecki, 27VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

*Radiococcus* Schmidle

CH-34, *R. nimbatius* (de Wild.) Schmidle, D. Czarnecki, 25VIII82, West Lake Okoboji, Dickinson Co., IA

*Schizoclamys* Braun in Kütz.

GR-26, *S. gelatinosa* Braun in Kütz., D. Czarnecki, 25VII86, Beaver Lake, Itasca State Park, MN

GR-28, *S. gelatinosa* Braun in Kütz., D. Czarnecki, 11VII86, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

*Sorastrum* Kütz.

CH-45, *S. americanum* (Bohlin) Schmidle, D. Czarnecki, 27VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

*Spondylosium* Bréb.

Z-37, *S. pulchrum* (Bail.) Archer, D. Czarnecki, 27VIII85 North Deming Pond, Itasca State Park, MN

*Staurostrum* Meyen

Z-34, *S. arcuatum* Nordst., D. Czarnecki, 29VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

Z-24, *S. bieneanum* Rabenh., D. Czarnecki, 27VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

Z-29, *S. brachioprominens* Börg., D. Czarnecki, 27VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

Z-28, *S. cornutum* Archer, D. Czarnecki, 27VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

Z-27, *S. dilatatum* (Ehr.) Ralfs, D. Czarnecki, 27VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

Z-31, *S. johnsonii* var. *depauperatum* G. M. Sm., D. Czarnecki, 27-VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

Z-48, *S. manfeldtii* var. *parvum* Mess., D. Czarnecki, 13VIII87, Lake Itasca, Itasca State Park, MN

Z-40, *S. ophiura* Lundell, D. Czarnecki, 27VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

*Tetraedron* Kütz.

CH-53, *T. limneticum* Borge, M. Edlund, 2VII86, Lake Itasca, Itasca State Park, MN

CH-52, *T. minima* (Braun) Hansgirg, M. Edlund, 8VII86, North Deming Pond, Itasca State Park, MN



*Tetraspora* Link

GR-19, *T. lubrica* (Roth) Ag., D. Czarnecki, Little Menominee River, Jo Daviess Co., IL

*Treubaria* Bernard

CH-35, *T. setigerum* (Archer) G. M. Sm., D. Czarnecki, West Lake Okoboji, Dickinson Co., IA

*Trichosarcina* Nichols & Bold

GR-17, *T. polymorpha* Nichols & Bold, M. Basterricha, 27VI82, Spring Run, Dickinson Co., IA

*Xanthidium* Ehr.

Z-36, *X. antilopaeum* var. *oligacanthum* Schmidle, D. Czarnecki, 27VIII85, North Deming Pond, Itasca State Park, MN

## ACKNOWLEDGEMENTS

Gratitude is particularly extended to Dean Blinn who provided the initial stimulus for the author's attempts at algal isolation and culture. Appreciation is also in order for the encouragement provided by Loras College.

## REFERENCES

- BEN-AMOTZ A., TORNABENE T.G. & THOMAS W.H., 1985 — Chemical profile of selected species of microalgae with emphasis on lipids. *J. Phycol.* 21 : 72-81.
- CZARNECKI D.B., 1987 — The freshwater diatom collection at Loras College, Dubuque, Iowa. *Notul. Nat. Acad. Nat. Sci. Philadelphia* No. 465, 16 p.
- CZARNECKI D.B. & ROSS M.J., 1988 — The Loras College Itasca State Park Algal Culture Collection. *J. Minn. Acad. Sci.* 53 (In Press).
- HAINES K.C., HOAGLAND K.D. & FRYKELL G.A., 1982 — A preliminary list of algal culture collections of the world. In ROSOWSKI J.R. & PARKER B.C. (Eds.), *Selected Papers in Phycology*, II. Phycological Society of America, Lawrence, Kansas, pp. 820-26.
- LANG N.J., KRUPP J.M. & KOLLER A.L., 1987 — Culturing, ultrastructure and colony formation in *Pectodictyon cubicum* (Chlorophyceae, Chlorococcales). *J. Phycol.* 23 : 457-464.
- NICHOLS H.W. & BOLD H.C., 1965 — *Trichosarcina polymorpha* Gen. et Sp. Nov. *J. Phycol.* 1 : 34-38.
- STARR R.C. & ZEIKUS J.A., 1987 — UTEX - The Culture Collection of algae at the University of Texas at Austin. *J. Phycol.* 23 (Suppl.) : 1-47.



## EFFECTS OF AMMONIUM, NITRATE AND PHOSPHATE ON THE GROWTH OF *CYSTOSEIRA STRICTA* (PHAEOPHYTA, FUCALES) CUTTINGS IN CULTURE

Marie EPIARD-LAHAYE\*

**ABSTRACT** -- The effect of different concentrations of ammonium, nitrate and phosphate on the growth of *Cystoseira stricta* cuttings was studied. Cuttings were cultivated under different concentrations of added nutrients (0 to 2.35 mM  $\text{NO}_3^-$ , 0 to 0.625 mM  $\text{NH}_4^+$ , 0 to 0.125 mM  $\text{PO}_4^{3-}$ ) and similar light, temperature and emersion - immersion conditions. Their growth is stimulated by nitrate supply whereas phosphate addition does not increase their development rate. Highest concentrations of tested enrichments result (1) in a growth rate lower than that of the control plant and (2) in the rotting of the plants. Nature of the nutrient added also influenced morphological development and pigmentation of the cuttings.

**RÉSUMÉ** -- Notre étude porte sur l'influence de différentes concentrations ■ ammonium, nitrate, phosphate sur la croissance des boutures de *Cystoseira stricta*. Les teneurs ■ ■ ■ différents sels nutritifs varient de ■ à 2,35 mM pour  $\text{NO}_3^-$ , de 0 à 0,625 mM  $\text{NH}_4^+$  et de 0 à 0,125 mM pour  $\text{PO}_4^{3-}$ . Un enrichissement en nitrate est nettement plus favorable à la croissance qu'un enrichissement en phosphate. L'aspect morphologique ■ la pigmentation sont également fonction de la nature de l'enrichissement. Des concentrations trop élevées en ces sels nutritifs induisent un taux de croissance inférieur à celui des boutures témoins et provoquent le pourrissement des boutures.

**KEY WORDS** : *Cystoseira*, culture, nitrogen, phosphate, enrichment.

### INTRODUCTION

As with higher plants, the development of numerous algae is affected by nutrient supplementation of the culture medium. Nitrogen fertilizers are generally considered to stimulate plant growth and to intensify pigmentation. Such a phenomenon has been described for Rhodophyta e. g. for *Chondrus crispus* and *Palmaria palmata* (Neish *et al.*, 1977; Morgan *et al.*, 1980) and for Phaeophyta : *Laminaria* (Chapman *et al.*, 1978). Studies about phosphate requirements have shown that this compound is necessary to obtain suitable development of microscopic stages of brown algae : *Lessonia nigrescens* (Hoffman *et*

\* Laboratoire de Biologie végétale. Faculté des sciences de Luminy. 70, route Léon Lachamp. 13288 Marseille Cedex 9. France.

*al.*, 1984), *Laminaria saccharina* (Hsiao & Druehl, 1973). Chemical composition and regenerative properties of *Cystoseira stricta* lead us to study the influence of such nutrients on the growth, morphological differentiation and pigmentation of cuttings of this species.

## MATERIAL AND METHODS

Numerous thalli of *Cystoseira stricta* Sauvageau (Phaeophyta, Fucales) were collected at Carro (Southeastern France near Marseille) in early December 1984, at the beginning of the growth period. One thousand six hundred young primary axes were cut. Cuttings were prepared as described in a preceding paper (Epiard-Lahaye *et al.*, 1987): from each primary axis, apical and subapical segments were collected. All these cuttings were 1 cm long. Statistical minimum sample size was calculated from preliminary experimentation using the formula:  $n = \frac{4\sigma^2}{d^2}$  where  $d$  is the maximal error,  $\sigma$  is the standard deviation and the confidence level is 95 % (Dagnelie, 1973). The result was that 36 cuttings were necessary to obtain a statistically significant sample.

From a larger collection of segments, 40 cuttings from each of two sorts of segments were selected at random. Two samples of apical segments and two samples of subapical segments were placed in each culture tank. At the beginning of the culture, plant tissue total weight, in each tank, varies from 6.5 to 7.0 g. The free-living system used for these cultures (Pellegrini & Lahaye, 1987) consists of eighteen modules arranged in a thermostatically controlled water. Each module is composed of (1) a superior culture tank (2) a central transfer tank and (3) a lower feed-pump. The feed pump draws water from the transfer tank to the culture one. The water reaches a siphon and then an overflow. When the pump stops, the siphon empties the culture tank. The siphon fails and the cycle starts again. The samples were exposed to an emergence-submergence cycle of 5 min/10 min. This cycle has been determined to be the best for the development of the cuttings (Epiard-Lahaye *et al.*, 1987).

Temperature of the room and of the culture medium was maintained at  $16 \pm 1^\circ\text{C}$ . The light over each section of 6 culture tanks was provided by four fluorescent lamps: 2 cool-white (Claude, 52 W) and 2 Gros-lux (Sylvania, 52 W). The quantum irradiance received by the cuttings was  $100 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ . The culture medium was natural seawater from Carro, 25 liters in each culture tank, enriched or not with mineral salts. Salinity was regulated at 38 ‰. Daily water analysis (for  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NH}_4$  and  $\text{PO}_4$ ) showed that the medium in each culture unit had to be changed weekly, except for  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  for which it had to be renewed every three days. The procedure used for analyses of N was colorimetry after Koroleff (1969). The measurement method for P was colorimetry after Murphy & Riley (1962). Aeration of the seawater was provided by a regulated bubbling of compressed air in each culture tank.

The investigation relates, at the same time, to the nature and to the concentration of the enrichment. The influence of five different salts was studied in

Number of the tank	Nature of the enrichment	Concentration of $\text{NO}_3^-$ or $\text{PO}_4^{3-}$ (mM) added.
1	$\text{KNO}_3$	0.69
2		0.99
3		1.98
4	$\text{NaNO}_3$	0.59
5		1.18
6		2.35
7	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	0.13
8		0.25
9		0.63
10	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	$3.7 \cdot 10^{-3}$
11		$14.7 \cdot 10^{-3}$
12		$73.5 \cdot 10^{-3}$
13	$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	$41.7 \cdot 10^{-3}$
14		$83.3 \cdot 10^{-3}$
15		$125.0 \cdot 10^{-3}$
16	unenriched seawater	$\blacksquare$ $\text{P-PO}_4$ : $0.32 \cdot 10^{-3}$ $\blacklozenge$ $\text{N-NO}_3$ : $0.25 \cdot 10^{-3}$ $\blacklozenge$ $\text{N-NH}_4$ : $0.15 \cdot 10^{-3}$

Table I: Nature and concentrations of the nutrients added to the culture medium.

\* These concentrations represent an average value of our weekly measurements during the experiment.

the development regeneration and pigmentation of *Cystoseira stricta* cuttings. For each mineral salt, three concentrations were tested (Table I). The results were compared to those obtained in unenriched seawater. The averages of the naturally occurring concentrations in the Mediterranean Sea, at the collection station in winter (measurements in 1976, 1977, 1978) were :

$\text{N-NO}_3 = 3.0 \cdot 10^{-3} \text{ mM}$  and  $\text{P-PO}_4 = 0.15 \cdot 10^{-3} \text{ mM}$  (Arfi, 1984).

Growth was measured by fresh weight determination of each sample (40 cuttings) at weekly intervals during a period of nine weeks. At the end of the experimentation, the plants were blotted, frozen and freeze-dried for further

analysis. Freeze-dried material was treated for spectrophotometric pigment analysis. Pigment extraction is carried out using 90 % acetone. Estimation of the pigment content is made according to the equations of Jeffrey & Humphrey (1975).

After each fresh weight measurement, the cumulative growth percentage of all the samples was calculated by using the formula :

$$P = \frac{(m - m_0) 100}{m_0}$$

P : cumulative growth percentage

m : fresh weight at time t

m<sub>0</sub> : fresh weight at time 0.

Time 0 is the first day of the experiment, when the cuttings are placed in the culture tanks.

All data were statistically treated with linear regression method and the differences between the regression coefficients were tested by the Student's t-test ( $p = 0.05$ ).

## RESULTS

Although small differences exist between apical and subapical segments, the results obtained for these two sorts of cuttings compare well. Growth percentages values calculated for subapical segments are generally lower than those obtained for apical segments. This can be explained by the two weeks reaction time necessary for the edification of the neoformation buds.

### Nitrate and ammonium enrichments.

The effect of nitrate fertilization on growth rate is striking, especially when the enrichment added to the medium is  $\text{KNO}_3$  or  $\text{NaNO}_3$ . Concentrations listed are significantly higher than the naturally occurring concentrations in the sea.

Data presented in Table II and in figs 1 and 2 show that the highest growth rates (600 to 700 % at the end of the culture) appear with the smallest enrichment concentration tested :  $\text{KNO}_3 = 0.69 \text{ mM}$  and  $\text{NaNO}_3 = 0.59 \text{ mM}$ . Figs. 1 and 2 show that the maximum growth percentage is nearly reached by the control plants, as early as the sixth week, whereas cuttings cultivated in the lowest enriched media continue to grow up to the end of the experimentation. From these figures, it is important to note that addition of excess  $\text{KNO}_3$  or  $\text{NaNO}_3$  (1.98 or 2.35 mM) results in a significantly smaller enhancement of plant weight (173.6 and 342.8 % for apical segments; 228.1 and 256.6 % for subapical segments). Cuttings cultivated in such conditions are richly pigmented but they begin to rot during the last week of the experimentation. Growth rate is saturated at a  $\text{NO}_3$  concentration between 1 and 2 mM.

Data obtained for  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  is different from that obtained for  $\text{KNO}_3$  or  $\text{NaNO}_3$ . Daily water analysis show that there is a clear preference for ammonia

Nature of the salt	Concentration mM	Apical segments			Subapical segments		
		P $\pm$ SE	R	a	P $\pm$ SE	R	a
Unenriched seawater		328.1 $\pm$ 8.9	0.959	36.99	253.5 $\pm$ 9.1	0.974	27.94
KNO <sub>3</sub>	0.69	706.9 $\pm$ 4.9	0.985	81.36	691.7 $\pm$ 124.4	0.982	81.27
	0.99	548.3 $\pm$ 38.9	0.994	66.12	396.8 $\pm$ 0	0.988	48.65
	1.98	*173.6 $\pm$ 25.5	0.972	20.08	*228.1 $\pm$ 30.0	0.989	27.46
NaNO <sub>3</sub>	0.59	634.5 $\pm$ 36.5	0.984	77.82	487.5 $\pm$ 0	0.987	56.60
	1.18	466.5 $\pm$ 44.6	0.996	55.34	447.9 $\pm$ 10.3	0.991	52.43
	2.35	342.8 $\pm$ 10.1	0.997	39.29	256.6 $\pm$ 13.5	0.996	30.62
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0.13	423.1 $\pm$ 21.3	0.996	51.10	452.8 $\pm$ 2.0	0.993	56.71
	0.25	*437.1 $\pm$ 4.1	0.994	59.76	*367.6 $\pm$ 22.9	0.994	45.31
	0.63	*262.1 $\pm$ 2.4	0.998	39.26	*253.5 $\pm$ 6.4	0.988	39.55
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3.7.10 <sup>-3</sup>	** 96.5 $\pm$ 2.5	0.976	26.66	*1 70.0 $\pm$ 2.3	0.979	19.34
	14.7.10 <sup>-3</sup>	215.4 $\pm$ 10.9	0.971	25.22	220.2 $\pm$ 7.8	0.975	27.67
	73.5.10 <sup>-3</sup>	*152.2 $\pm$ 13.3	0.963	20.14	*136.1 $\pm$ 2.0	0.979	18.96
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	41.7.10 <sup>-3</sup>	266.5 $\pm$ 3.5	0.963	30.28	255.0 $\pm$ 20.7	0.989	31.75
	83.3.10 <sup>-3</sup>	328.6 $\pm$ 20.2	0.962	37.30	257.5 $\pm$ 47.7	0.979	31.46
	125.0.10 <sup>-3</sup>	331.1 $\pm$ 10.7	0.969	39.07	245.3 $\pm$ 5.8	0.983	29.49

Table II : Final growth percentages of the cuttings grown at 3 concentrations of 5 different enrichments and grown in an unenriched seawater, and their corresponding linear regression coefficients (means  $\pm$  95 % confidence limits).

P : growth percentage at the end of the culture; SE : standard error; R : correlation coefficient; a : slope of the regression line; \* : only 8 weeks of culture; \*\* : only 7 weeks of culture; \*\*\* : only 4 weeks of culture.

as a nitrogen source (Fig. 3). Therefore, this double nitrogen source does not seem to be the best for the growth of *Cystoseira stricta* cuttings. Such an enrichment (0.13 and 0.25 mM N-NH<sub>4</sub>) results in an increasing of the weight only 1.3 times higher than that obtained in an unenriched seawater (Tableau II, Fig. 4). When N-NH<sub>4</sub> concentration equals 0.63 mM (total N = 1.26 mM), growth rate of the cuttings is similar to that of the control plants and significantly lower than those obtained in a 1.18 mM N-NO<sub>3</sub> (as NaNO<sub>3</sub>) enriched media. Addition of excess nitrogen causes the decay of the plants.

Data presented in these figures establish that substantial growth occurs by addition of the smallest amounts of KNO<sub>3</sub> or NaNO<sub>3</sub> tested. These different growth rates are reflected in appreciable morphological variations (Figs. 5 and 6). Cuttings submitted to KNO<sub>3</sub> or NaNO<sub>3</sub> enrichment show appreciable morphological differences one another, they are richly pigmented, highly bran-

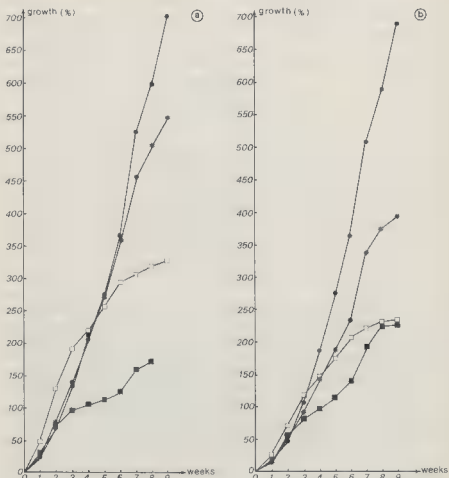


Fig. 1 — Cumulative growth of cuttings fertilized with nitrate ( $\text{KNO}_3$ ) or not (controls). Results expressed in different percentages of the initial fresh weight.

a : apical segments, b : subapical segments.

■ : 0.69 mM N- $\text{NO}_3$ , ★ : 0.99 mM N- $\text{NO}_3$ , ● : 1.98 mM N- $\text{NO}_3$ , □ : control.

ched and develop numerous neoformation branches (Fig. 5b and 6b). Addition of  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  results in very long and delicate fragments (Figs. 5c and 6c). The tips of the new branches are poorly pigmented. Pigments analysis show that  $\text{KNO}_3$  supplementation of the medium results in fragments as pigmented as material just collected. Total chlorophyll content decreases when fragments are sub-



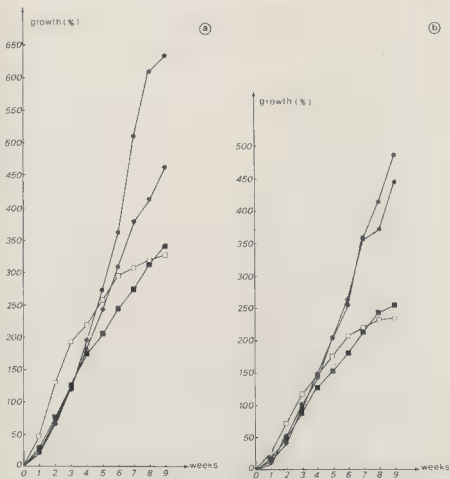


Fig. 2 — Cumulative growth of cuttings fertilized with nitrate ( $\text{NaNO}_3$ ) or not (controls). Results expressed in different percentages of the initial fresh weight.

a : apical segments, b : subapical segments.

■ : 0.59 mM  $\text{N-NO}_3$ , ★ : 1.18 mM  $\text{N-NO}_3$ , ■ : 2.35 mM  $\text{N-NO}_3$ , □ : control.

mitted to a  $\text{NaNO}_3$  enrichment. Addition of  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  results in less pigmented cuttings. Total chlorophylls and carotenoids contents are lower than in axes just collected. However, values obtained after N enrichment are higher than those obtained for the control cultivated in an unenriched seawater (Table III).

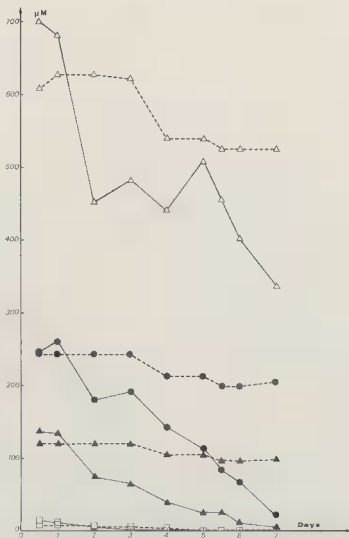


Fig. 3 — Daily water N content in the three  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ -enriched culture tanks and in the control tank.

— :  $\text{N-NH}_4$ , - - - :  $\text{N-NO}_3$ .

▲ : 0.26 mM total N, ● : 0.50 mM total N, △ : 1.26 mM total N, □ : control.

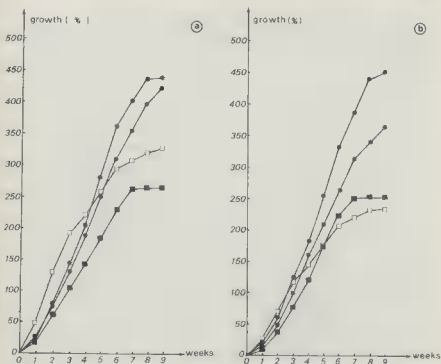


Fig. 4 — Cumulative growth of cuttings fertilized with ammonium and nitrate ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) or not (controls). Results expressed in different percentages of the initial fresh weight.  
 ● : 0.26 mM total N, ★ : 0.50 mM total N, ■ : 1.26 mM total N, □ : control.

### Phosphate enrichment

As for nitrate salts, the range in phosphate supplementation values is consistently high. In such an enriched seawater, growth is poor, and the plants lose their pigmentation, with bleaching of the tips of the branches (Figs. 5d and 6d). Fragments cultivated in  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  and  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  enriched seawater are as poorly pigmented as the control cultivated in an unenriched seawater (Table III). Values obtained for these samples are significantly lower than those resulting from material just collected. Necrosis also appears at the tips of the branches, during the last weeks of the experimentation.

Plants cultivated in a  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (1) enriched medium grow significantly slower than the control plants (Table II, Fig. 7a, b). The lowest growth rate

(1) A breakdown of the feed-pump number 10 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4 = 3.7 \cdot 10^{-3}$  mM) during the third week of the experimentation, resulted in the death of the cuttings cultivated in this tank. No statistical comparison can be made for this concentration.

Nature of the enrichment	Concentration of N or P (mM) added.	Chlorophyll <i>a</i> $\mu\text{g.mg}^{-1}$ DM	Chlorophyll <i>c</i> $\mu\text{g.mg}^{-1}$ DM	Total chlorophyll $\mu\text{g.mg}^{-1}$ DM	Carotenoids $\mu\text{g.mg}^{-1}$ DM
Cultivation control		0.119	0.237	0.356	$88.8 \cdot 10^{-3}$
Collection control		1.400	0.301	1.701	$417.4 \cdot 10^{-3}$
$\text{KNO}_3$	0.69	0.323	0.754	1.077	$472.8 \cdot 10^{-3}$
	0.99	1.678	0.210	1.888	$409.6 \cdot 10^{-3}$
$\text{NaNO}_3$	0.59	0.518	0.738	1.316	$410.4 \cdot 10^{-3}$
	1.18	0.533	0.809	1.342	$414.4 \cdot 10^{-3}$
	2.35	0.520	0.799	1.309	$391.2 \cdot 10^{-3}$
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	0.26	0.431	0.634	1.065	$339.2 \cdot 10^{-3}$
	0.50	0.400	0.605	1.005	$358.4 \cdot 10^{-3}$
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	$14.7 \cdot 10^{-3}$	0.119	0.222	0.341	$97.6 \cdot 10^{-3}$
	$73.5 \cdot 10^{-3}$	0.148	0.288	0.436	$116.8 \cdot 10^{-3}$
$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	$41.7 \cdot 10^{-3}$	0.175	0.361	0.536	$125.6 \cdot 10^{-3}$
	$83.3 \cdot 10^{-3}$	0.108	0.184	0.292	$88.0 \cdot 10^{-3}$
	$125.0 \cdot 10^{-3}$	0.083	0.174	0.257	$80.0 \cdot 10^{-3}$

Table III : Pigment contents of the cuttings grown at three concentrations of five different enrichments, grown in an unenriched seawater and just gathered at the collection station.  
DM : dry matter.

(152.2 and 136.1 % for apical and subapical segments respectively) is observed when  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  concentration is  $73.5 \cdot 10^{-3}$  mM. Cuttings cultivated in such conditions cannot survive during the experiment. The decay of the plants is observed after 7 weeks culture.

No significant difference exists between plants cultivated in a  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  enriched medium and plants cultivated in unenriched seawater (Table II, fig. 7c, d). The concentrations tested seem to be too high to provide a significant enhancement of the cuttings growth, but they are not high enough to inhibit the growth.

## DISCUSSION

Nitrate supplementation is found to increase growth rates. This effect is particularly important when nitrate supply does not exceed 1 mM. This influence is effective only when N added is  $\text{NO}_3$  alone. Such a correlation between



Fig. 5 — Morphological aspects of the apical cuttings at the end of the culture.

a : Control plant, b : Apical cutting submitted to a  $\text{KNO}_3$  ( $0.69 \text{ mM N-NO}_3$ ) enrichment, c : Apical cutting submitted to a  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  ( $0.50 \text{ mM total N}$ ) enrichment, d : Apical cutting submitted to a  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ( $14.7 \cdot 10^{-3} \text{ mM P-PO}_4$ ) enrichment.



Fig. 6 — Morphological aspects of the subapical cuttings at the end of the culture.

■ : Control plant, b : Subapical cutting submitted to a  $\text{KNO}_3$  ( $0.69 \text{ mM N-NO}_3$ ) enrichment, ■ : Subapical cutting submitted to a  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  ( $0.50 \text{ mM total N enrichment}$ ), d : Subapical cutting submitted to a  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ( $14.7 \cdot 10^{-3} \text{ mM P-PO}_4$ ) enrichment.

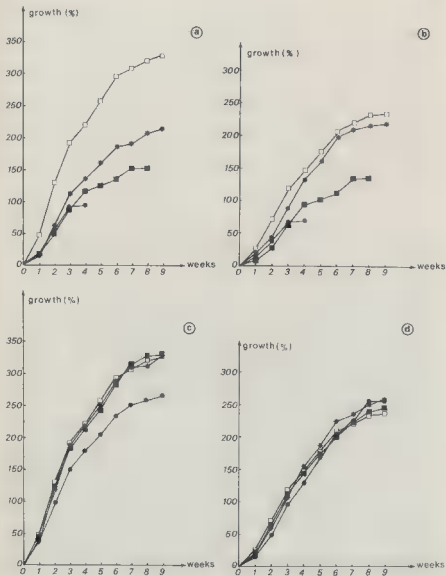


Fig. 7 — Cumulative growth of cuttings fertilized with phosphate or not (controls). Results expressed in different percentages of the initial fresh weight.

a and b : KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> enrichment. a : apical segments, b : subapical segments.

● :  $3.7 \cdot 10^{-3}$  mM P-PO<sub>4</sub>, ★ :  $14.7 \cdot 10^{-3}$  mM P-PO<sub>4</sub>, ■ :  $73.5 \cdot 10^{-3}$  mM P-PO<sub>4</sub>, □ : control.

c and d : NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> enrichment. c : apical segments, d : subapical segments.

● :  $41.7 \cdot 10^{-3}$  mM P-PO<sub>4</sub>, ★ :  $83.3 \cdot 10^{-3}$  mM P-PO<sub>4</sub>, ■ :  $125.0 \cdot 10^{-3}$  mM P-PO<sub>4</sub>, □ : control.

$\text{NO}_3$  concentration and growth has been demonstrated for other Phaeophyta in particular Laminariales. The marked seasonal variations in growth rates in the genus *Laminaria* has often been correlated to seasonal fluctuations in dissolved inorganic nutrients (essentially nitrates). Chapman & Craigie (1977), and Chapman & Lindley (1980) related growth rates of *Laminaria longicurvis* and *Laminaria solidungula*, *in situ*, and inorganic nutrient changes occurring in the seawater. For *Macrocystis pyrifera*, Gerard (1982) showed that a minimum  $\text{NO}_3$  concentration of 1 to 2  $\mu\text{M}$  is necessary for the growth of this seaweed. Such a relation also exists when the seaweeds are cultivated in greenhouse tanks. The growth rate of *Laminaria saccharina* sporophytes is dependent on inorganic nitrogen in the culture medium (Chapman *et al.*, 1978; Wheeler & Weidner, 1983). There is a close relationship between growth and nutrient concentration, up to a saturating substrate concentration situated between 5 and 10  $\mu\text{M}$  nitrate.

Nitrogen in our control tank remains at levels averaging 0.25  $\mu\text{M}$   $\text{NO}_3$  and 0.15  $\mu\text{M}$   $\text{NH}_4$ . These values are very low and perhaps not sufficient to support a high growth rate. Pigment content is affected by these nitrogen levels. Total chlorophylls and carotenoids are 5 times higher in fresh material than in fragments cultivated in a medium with no additional nutrient supply. It is clear that with such a bleaching, *Cystoseira stricta* cuttings can not support a great development.

External concentrations of  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_3$  and  $\text{NO}_2$  influence the uptake of these available forms of nitrogen. The uptake of  $\text{NO}_3$  generally follows a hyperbolic curve resembling those described by the Michaelis-Menten equation (Topinka, 1978 : *Fucus spiralis*; Harlin, 1978 : *Enteromorpha* spp.; D'Elia & De Boer, 1978 : *Neogardhiella baileyi* and *Gracilaria foliifera*; Haines & Wheeler, 1978 : *Hypnea musciformis* and *Macrocystis pyrifera*). Such an uptake curve in  $\text{NO}_3$  can result in a corresponding growth rate curve (De Boer *et al.*, 1978 : *Gracilaria foliifera* and *Neogardhiella baileyi*).

Our data indicate that nitrate, as the sole source of nitrogen addition, enrichment results in growth rate enhancement. Similar responses has been described for many other species. Although values are higher than those determined for the genus *Laminaria* or for *Codium fragile* (Hanisak, 1979 a and b), they compare well with those employed by Morgan *et al.* (1980) for *Palmaria palmata* ( $\text{NaNO}_3$  1 mM added per liter of seawater). The best growth is obtained with addition of 0.69 mM  $\text{NO}_3$  (as  $\text{KNO}_3$ ). Differences observed between  $\text{NaNO}_3$  and  $\text{KNO}_3$  treated cuttings could be explained by potassium role during absorption of photosynthesis products. Growth is slower and can be inhibited when  $\text{NO}_3$  concentration becomes more important. Further investigations are necessary to determine whether smaller concentrations could provide better results. Smaller amounts of nitrogenous fertilizer will perhaps be more favorable to the alginic acid synthesis, as it is the case for carrageenan and agar synthesis (Dawes *et al.*, 1974; De Boer, 1978, Guist *et al.*, 1982). There is an inverse relationship between phycocolloids synthesis and plant growth.

When nitrogen supply to the culture medium consists of  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , growth response is different. Daily analysis of the culture medium show that uptake



of  $\text{NH}_4$  is more important than uptake of  $\text{NO}_3$  (Fig. 3). Faster uptake and utilization of ammonium has been shown in *Macrocystis pyrifera* (Wheeler, 1982; Wheeler & Srivastava, 1984). The difference between ammonium and nitrate uptake could be explained by the greater need for reductant and energy for assimilation of nitrate than for ammonium (Syrett, 1981). In the light, ammonium does not inhibit nitrate uptake of brown algae (Wheeler & Srivastava, 1984; Topinka, 1978; Haines & Wheeler, 1978; Harlin & Craigie, 1978), contrary to the situation observed in many phytoplankton and red algae (Collos & Slawyk, 1980; De Boer, 1981). Nitrate uptake by unicellular algae stops when  $\text{NH}_4$  concentrations exceed a certain threshold. The  $\text{NH}_4$  threshold generally ranges between 0.5 and 1.0  $\mu\text{M}$  N but it can be higher as it is in oyster-pond algae (Robert & Maestrini, 1986; Maestrini *et al.*, 1986).

The growth of *Cystoseira stricta* cuttings receiving such an enrichment is only two thirds of that obtained with the addition of nitrate alone. Nitrate and ammonium do not seem to support similar growth rates. The same results, in different culture conditions, have been obtained by Fries (1963) for *Gonio-trichum* and *Nemalion*. Some of the more obvious effects of nitrogen deprivation in microalgal cultures are an accumulation of carbon reserves, a reduction in the rate of photosynthesis and a loss of chlorophyll (Syrett, 1981). *Cystoseira stricta* cuttings grown on  $\text{NH}_4$  have less chlorophyll than the collection control and than the cultures supplied with  $\text{NO}_3$  alone. Such a loss of chlorophyll could partly explain the reduced growth rate. On the other hand, the increased growth rate of the cuttings cultivated in a  $\text{KNO}_3$  enriched medium could be partly consequent upon high chlorophyll ratio. Further experiments will be conducted in the near future to determine whether nitrogen status could influence the rate of photosynthesis. Although, in many cases, nitrate and ammonium can provide similar growth rates (Neish & Fox, 1971; Neish & Shacklock, 1971; Prince, 1974 : *Chondrus*; Topinka & Robbins, 1976 : *Fucus*). High ammonium concentrations (0.63 mM) result in an inhibition of the growth. Inhibitory effects of high ammonium concentrations have been reported for several Chlorophyta (Andersson, 1942 : *Enteromorpha* and *Ulva*; Kautsky, 1982 : *Enteromorpha*).

Phosphate supply does not increase growth rate of *Cystoseira stricta* cuttings and sometimes results in an inhibition of the growth. However, it seems to be necessary for the complete development of microscopic stages of *Lessonia nigrescens* (Hoffmann *et al.*, 1984). The patterns of development may be modified by the interactions of nitrates and phosphates (Hsiao & Druehl, 1973 : *Laminaria saccharina*; Hoffmann & Santelices, 1982; Hoffmann *et al.*, 1984 : *Lessonia nigrescens*). Experimentation with some agricultural fertilizers, shows that the best growth rates were obtained when the fertilizer added contained at the same time, nitrogen and phosphorus (Gonzales-Rodriguez & Maestrini, 1984). It is possible that nutrient requirements may change with culture mode and conditions (light, temperature, . . .) and also with the development stage of the algae. The results from these P supplementation experiments indicate that the concentrations chosen are above saturation.

Another important observation leads in the fact that the pigmentation of the cuttings varies with the nature of the nutrient supply. When the culture medium is enriched with phosphates, the new branches are as lightly pigmented as cuttings cultivated in unenriched seawater. As for numerous other macrophytes, addition of nitrogen results in richly pigmented plants. The chlorophyll content and photosynthetic capacities of *Laminaria saccharina* in culture increase with increasing external  $\text{NO}_3$  (Chapman et al., 1978). Pigment content of our  $\text{NO}_3$  (as the sole source of nitrogen addition) enriched cuttings is similar to fresh material one. The deep-red pigmentation of *Palmaria palmata* (Morgan et al., 1980; Morgan & Simpson, 1981), *Chondrus crispus* (Neish et al., 1977), *Gelidium amansii* (Yamada, 1972), *Gigartina exasperata* and *Iridea cordata* Waaland, 1977), *Hypnea* (Mshigeni, 1978), receiving N supply, shows the general occurrence of this phenomenon in red algae. Our data agree with these observations but they are more restrictive : cuttings are darkly colored only when nitrate represents the only N source added. When nitrate supply is coupled with ammonium, pigmentation is less intensive and the tips of the new branches are bleached. There is a relationship between pigment content and growth. The observed growth enhancement by nitrate application can be explained in terms of nitrate role in pigmentation.

The information from this study may be useful in designing feeding conditions for further *Cystoseira* pilot-scale cultivation.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

The author is grateful to Pr. Penot who kindly put his laboratory facilities at my disposal for pigment analysis. I wish to thank L. Bader for assistance in the preparation of the English text.

#### REFERENCES

- ANDERSSON M., 1942 — Einige ernährungsphysiologische Versuche mit *Ulva* und *Enteromorpha*. Kungl. Fysiogr. Sällsk. Lund, Förh. 12 : 1-11.
- ARFI R., 1984 — Gulf of Fos (France) : Main hydrological features (1976-1978). *Hydrobiologia* 118 : 187-197.
- CHAPMAN A.R.O. & CRAIGIE J.S., 1977 — Seasonal growth in *Laminaria longicruris* : relations with dissolved inorganic nutrients and internal reserves of nitrogen. *Mar. Biol.* 40 : 197-205.
- CHAPMAN A.R.O. & LINDLEY J.E., 1980 — Seasonal growth of *Laminaria solidungula* in the Canadian High Arctic in relation to high irradiance and dissolved nutrient concentrations. *Mar. Biol.* 57 : 1-5.
- CHAPMAN A.R.O., MARKHAM J.W. & LÜNING K., 1978 — Effects of nitrate concentration on the growth and physiology of *Laminaria saccharina* (Phaeophyta) in culture. *J. Phycol.* 14 : 195-198.

- COLLOS Y. & SLAWYK G., 1980 — Nitrogen uptake and assimilation by marine phytoplankton. In FALKOWSKI P.G. (Ed.), *Primary productivity of the sea*. Plenum Press, New York, pp. 195-211.
- DAGNELIE P., 1973 — *Théorie et méthodes statistiques*, Vol. 1. Presses Agronomiques de Gembloux (Belgique), 378 p.
- DAWES C.J., LAWRENCE J.M., CHENNY D.P. & MATHIESON A.C., 1974 — Ecological studies of Florida *Eucheuma*. 3- Seasonal variation of carrageenan, total carbohydrate, protein and lipid. *Bull. Mar. Sci.* 24 : 286-299.
- DE BOER J.A., 1978 — Effects of nitrogen enrichment on growth rate and phycocolloid content in *Gracilaria foliifera* and *Neogardhiella baileyi* (Florideophyceae). *Proc. Int. Seaweed Symp.* 9 : 263-271.
- DE BOER J.A., 1981 — Nutrients. In LOBBAN C.S. & WYNNE M.J. (Eds.), *The biology of seaweeds*. Blackwell, London, pp. 356-392.
- DE BOER J.A., GUIGLI H.J., ISRAEL T.L. & D'ELIA C.F., 1978 — Nutritional studies of two red algae. I. Growth rate as a function of nitrogen source and concentration. *J. Phycol.* 14 : 261-266.
- D'ELIA C.F. & DE BOER J.A., 1978 — Nutritional studies of two red algae. II. Kinetics of ammonium and nitrate uptake. *J. Phycol.* 14 : 266-272.
- EPIARD-LAHAYE M., PELLEGRINI M. & WEISS H., 1987 — Influence des rythmes émergence-immersion sur le développement des boutures de *Cystoseira stricta* (Phéophycées, Fucales) en culture. *Bot. Mar.* 30 : 259-266.
- FRIES L., 1963 — On the cultivation of axenic red algae. *Physiol. Plant* 16 : 695-708.
- GERARD V.A., 1982 — *In situ* rates of nitrate uptake by giant kelp, *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Agardh : tissue differences, environmental effects, and predictions of nitrogen limited growth. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 62 : 211-224.
- GONZALEZ-RODRIGUEZ E. & MAESTRINI S.Y., 1984 — The use of some agricultural fertilizers for the mass production of marine algae. *Aquaculture* 36 : 245-256.
- GUIST G.G. Jr., DAWES C.J. & CASTLE J.R., 1982 — Mariculture of the red seaweed, *Hypnea musciformis*. *Aquaculture* 28 : 375-384.
- HAINES K.C. & WHEELER P.A., 1978 — Ammonium and nitrate uptake by the marine macrophytes *Hypnea musciformis* (Rhodophyta) and *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyta). *J. Phycol.* 14 : 319-324.
- HANISAK M.D., 1979a — Growth patterns of *Codium fragile* spp. *tomentosoides* in response to temperature, salinity, and nitrogen source. *Mar. Biol.* 50 : 319-332.
- HANISAK M.D., 1979b — Nitrogen limitation of *Codium fragile* spp. *tomentosoides* as determined by tissue analysis. *Mar. Biol.* 50 : 333-337.
- HARLIN M.M., 1978 — Nitrate uptake by *Enteromorpha* spp. (Chlorophyceae) : applications to aquaculture systems. *Aquaculture* 15 : 373-376.
- HARLIN M.M. & CRAIGIE J.S., 1978 — Nitrate uptake by *Laminaria longicruris* (Phaeophyceae). *J. Phycol.* 14 : 464-467.
- HOFFMANN A.J. & SANTELICES B., 1982 — Effects of light intensity and nutrients on gametophytes and gametogenesis of *Lessonia nigrescens* Bory (Phaeophyta). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 60 : 77-89.
- HOFFMANN A.J., AVILA M. & SANTELICES B., 1984 — Interactions of nitrate and phosphate on the development of microscopic stages of *Lessonia nigrescens* Bory (Phaeophyta). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 78 : 177-186.
- HSIAO S.J.C. & DRUEHL L.D., 1973 — Environmental control of gametogenesis in *Lami-*

- maria saccharina*. II. Correlation of nitrate and phosphate concentrations with gametogenesis and selected metabolites. *Canad. J. Bot.* 51 : 829-840.
- JEFFREY S.W. & HUMPHREY G.F., 1975 - New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c<sub>1</sub> and c<sub>2</sub> in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanz.* 167 : 191-194.
- KAUTSKY L., 1982 - Primary production and uptake kinetics of ammonium and phosphate by *Enteromorpha compressa* in an ammonium sulfate industry outlet area. *Aquatic Botany* 12 : 23-40.
- KOROLEFF F., 1969 - Direct determination of ammonia in sea water as rubazotic acid. *ICES Paper C. M.* : 1-9.
- MAESTRINI S.Y., ROBERT J.M., LEFTLEY J.W. & COLLOS Y., 1986 - Ammonium thresholds for simultaneous uptake of ammonium and nitrate by oyster-pond algae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 102 : 75-98.
- MORGAN K.C. & SIMPSON F.J., 1981 - Cultivation of *Palmaria (Rhodymenia) palmata* : effect of high concentrations of nitrate and ammonium on growth and nitrogen uptake. *Aquatic Botany* 11 : 167-171.
- MORGAN K.C., SHACKLOCK P.F. & SIMPSON F.J., 1980 - Some aspects of the culture of *Palmaria palmata* in greenhouse tanks. *Bot. Mar.* 23 : 765-770.
- MSHIGENI K.E., 1978 - Effects of nitrate fertilizer on the growth of the economic seaweed *Hypnea Lamouroux* (Rhodophyta, Gigartinales). *Nova Hedwigia* 29 : 231-236.
- MURPHY J. & RILEY J.P., 1962 - A modified single solution method for the determination of dissolved inorganic phosphates. *Anal. Chim. Acta* 14 : 318-319.
- NEISH A.C. & FOX C., 1971 - Greenhouse experiments on the vegetative propagation of *Chondrus crispus* (Irish Moss). *Technical Report Series n° 12, NRCC n° 12034*, 68 p. typescript.
- NEISH A.C. & SHACKLOCK P.F., 1971 - Greenhouse experiments on the propagation of strain T<sub>4</sub> of Irish Moss. *Atlantic Reg. Tech. Rep. Ser. n° 14, National Research Council, Canada, Halifax*, 25 p.
- NEISH A.C., SHACKLOCK P.F., FOX C.H. & SIMPSON F.J., 1977 - The cultivation of *Chondrus crispus*. Factors affecting growth under greenhouse conditions. *Canad. J. Bot.* 55 : 2263-2271.
- PELLEGRINI M. & LAHAYE M., 1987 - A tide-generating apparatus for laboratory cultures of marine algae. *Aquacultural Engineering* 6 : 183-189.
- PRINCE J.S., 1974 - Nutrient assimilation and growth of some seaweeds in mixtures of seawater and secondary sewage treatment. *Aquaculture* 4 : 69-79.
- ROBERT J.M. & MAESTRINI S.Y., 1986 - Absorptions simultanées des ions NO<sub>3</sub><sup>-</sup> et NH<sub>4</sub><sup>+</sup> par trois diatomées de claires à huîtres, en culture axénique. *Phycologia* 25 : 152-159.
- SYRETT P.J., 1981 - Nitrogen metabolism of microalgae. *Can. Bull. Fish. Aquatic Sci.* 210 : 182-210.
- TOPINKA J.A., 1978 - Nitrogen uptake by *Fucus spiralis* (Phaeophyceae). *J. Phycol.* 14 : 241-247.
- TOPINKA J.A. & ROBBINS J.V., 1976 - Effect of nitrate and ammonium enrichment on growth and nitrogen physiology in *Fucus spiralis*. *Limnol. Oceanogr.* 21 : 659-664.
- WAALAND J.R., 1977 - Growth of Pacific Northwest marine algae in semi-closed culture. KRAUSS R.W. (Ed.), *The Marine Plant Biomass of the Pacific Northwest Coast*. Oregon State University Press, pp. 117-137.
- WHEELER W.N., 1982 - Nitrogen nutrition of *Macrocystis*. SRIVASTAVA L.M. (Eds.),

*Synthetic and degradative processes in marine macrophytes*, Walter De Gruyter, Berlin, pp. 121-137.

WHEELER W.N. & SRIVASTAVA L.M., 1984 — Seasonal nitrate physiology of *Macrocystis integrifolia*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 76 : 35-50.

WHEELER W.N. & WEIDNER M., 1983 — Effects of external inorganic nitrogen concentration on metabolism, growth and activities of key carbon and nitrogen assimilatory enzymes of *Laminaria saccharina* (Phaeophyceae) in culture. *J. Phycol.* 19 : 92-96.

YAMADA N., 1972 — Manuring for *Gelidium*. NISIZAWA (Ed.). *Proc. Int. Seaweed Symp.* 7 : 385-390.



## APPARITION DU *CAULACANTHUS USTULATUS* (RHODOPHYTA, GIGARTINALES) DANS LA MANCHE OCCIDENTALE

André RIO et Jacqueline CABIOCH\*

RÉSUMÉ. — *Caulacanthus ustulatus*, espèce à distribution mondiale, n'était pas connue, sur les côtes européennes, au nord de Biarritz. Il vient d'être observé durant deux hivers consécutifs, dans la région de Roscoff, au voisinage d'installations ostréicoles probablement responsables de sa transplantation. Sa multiplication active, mais exclusivement par voie végétative, laisse présager une installation mais permet de supposer une simple extension géographique de l'espèce sans présumer d'une quelconque origine exotique.

ABSTRACT. — *Caulacanthus ustulatus* is a world-wide spread species but its northern limit on the atlantic european coast was in Biarritz. During the last two years it has been found near Roscoff on the north coast of western Brittany, in the vicinity of oyster beds which are probably the vector of its transportation. The species reproduced actively but vegetatively — which suggests a geographical extension and probably no exotic intrusion.

MOTS CLÉS : Rhodophyta, *Caulacanthus*, extension, France, Manche.

### INTRODUCTION

Une petite Rhodophycée gazonnante à aspect de Gélidiale a été récoltée pour la première fois en Décembre 1986 en épave dans le port de Carantec (Finistère Nord), au niveau de la Passe aux Moutons, puis retrouvée à plusieurs reprises au cours de l'hiver 1986-1987. Elle semblait avoir disparu durant l'été qui suivit. Observée de nouveau en Novembre et Décembre 1987, elle semble en cours d'installation dans la région. Ses caractères morphologiques et anatomiques la rapportent au *Caulacanthus ustulatus* (Mertens) Kützinger. Nous les rappelons brièvement afin de faciliter la recherche de l'espèce en d'autres localités de la Manche.

\* Station Biologique, 29211 Roscoff.



Fig. 1-3 : *Caulacanthus ustulatus*. — 1: Aspect d'ensemble; échelle : 2mm. 2: Apex d'un rameau montrant l'initiale à découpage oblique. 3: coupe transversale dans un rameau de calibre moyen, montrant l'axe et les cellules corticales toutes pourvues de plastides; échelle des microphotos : 20  $\mu$ m.

## DESCRIPTION

### Morphologie externe

Les thalles forment des touffes frisées, à allure de mousse, de 1 à 2 centimètres de hauteur et parfois plusieurs centimètres d'envergure. Leur couleur est



brun-roussâtre sur le vivant, devenant noire sur le sec ou après fixation dans le formol. La base est un ensemble de rameaux rampants fixés par des stolons (Fig. 1) nombreux, sur des supports divers, graviers ou coquilles qu'ils agglomèrent. Le thalle est extrêmement ramifié, d'une manière pseudodichotome, avec des rameaux disposés à  $90^\circ$  en tous sens. Les derniers, courts et épineux, sont très caractéristiques. L'ensemble, extrêmement intriqué, rappellerait un *Gigartina acicularis* particulièrement fin.

### Anatomie

Le thalle présente une organisation uniaxiale nette, croissant par une initiale apicale bien visible, à cloisonnement oblique (Fig. 2). L'axe est constitué d'une suite de cellules allongées de 60 à 80  $\mu\text{m}$  de long et 10  $\mu\text{m}$  de large. Il porte des verticilles de pleuridies en nombre variable (Fig. 3). Celles-ci par leur coalescence terminale forment un cortex distant de l'axe, composé de 3 couches de cellules toutes richement pourvues de plastes (Fig. 3).

### Reproduction

Les thalles récoltés n'étaient pas fertiles. Mais l'espèce, très stolonifère, semble se multiplier très activement par voie végétative.

### Biologie

L'espèce n'a, jusqu'à présent, été récoltée qu'en hiver. Elle a été recherchée en vain durant la saison estivale. On la trouve au voisinage immédiat des palissades entourant les installations ostréicoles. Elle était soit détachée soit fixée sur des coquilles mortes, sur sable fin plus ou moins vaseux, en milieu calme, au début de l'étagé infralittoral.

## DISCUSSION ET CONCLUSION

La distribution de l'espèce dans le nord-est de l'Atlantique (Ardré, 1970) va du Sénégal à Biarritz qui constitue sa limite septentrionale en Europe (Sauvageau, 1897; van den Hoek & Donze, 1966). Dans cette localité, comme en Méditerranée, elle a été observée à l'état de tétrasporophytes et de gamétophytes (Feldmann & Hamel, 1937). En réalité Searles (1968), après avoir mis en synonymie un certain nombre de taxons, a montré que l'espèce est largement distribuée par le monde. En outre, selon Norris & Wynne (1968) elle serait en cours d'extension le long des côtes pacifiques nord-américaines. Il paraît raisonnable, pour l'instant, de ne pas supposer aux spécimens de Carantec une origine très lointaine, comme ce fut le cas au contraire pour le *Lomentaria hakodatensis* Yendo découvert récemment (Cabioch & Magne, 1987), également au voisinage d'exploitations ostréicoles de la Manche occidentale. Les deux espèces présentent en commun le caractère d'être en cours d'extension grâce, semble-t-il, à des stratégies de multiplication particulièrement efficaces. Le fait que le *Caulacanthus ustulatus* demeurerait végétatif, inclinerait à conclure à une simple extension de son aire de distribution atlantique.

REMERCIEMENTS. — Les auteurs remercient vivement F. Ardré (M.N.H.N.) qui leur a fourni documents, conseils et échantillons de comparaison.

#### BIBLIOGRAPHIE

- ARDRÉ F., 1970 — Contribution à l'étude des Algues marines du Portugal. I. La Flore. *Portugaliae Acta Biol. Sér. B, Sist.* 10 : 423 p.
- CABIOCH J. & MAGNE F., 1987 — Première observation du *Lomentaria hakodatensis* (Lomentariaceae, Rhodophyta) sur les côtes françaises de la Manche (Bretagne occidentale). *Cryptogamie, Algol.* 8 : 41-48.
- FELDMANN J. & HAMEL G., 1937 — Floridées de France. VII. Gelidiales. *Rev. Algol.* 9 : 85-140.
- HOEK C. van den & DONZE M., 1966 — The algal vegetation of the rocky Cote Basque (SW France). *Bull. Centr. Études Rech. Sci.* 6 (2) : 289-319.
- NORRIS J.N. & WYNNE M.J., 1968 — Notes on marine algae of Washington and southern British Columbia. III. *Syesis* 1 : 133-146.
- SAUVAGEAU C., 1897 — Note préliminaire sur les algues marines du Golfe de Gascogne. *J. Bot.* 11 : 166-230.
- SEARLES R.B., 1968 — Morphological studies of red algae of the order Gigartinales. *Univ. Calif. Publ. Bot.* 48 : 150 p.

CERTAIN NEW TAXA OF *EUASTRUM SPINULOSUM*  
(DESMIDIACEAE)  
FROM KARNATAKA STATE (INDIA)

U.D. BONGALE\*

**ABSTRACT.** — Three new taxa of *Euastrum spinulosum* Delponte (viz. var. *emarginatum* Bongale var. nov., var. *octogonum* Bongale var. nov., and var. *octogonum* fa. *protrudens* Bongale fa. nov.) and another showing major variations (subsp. *africanum* var. *africanum* Nordst. are reported.

**RÉSUMÉ.** — Trois nouveaux taxons d'*Euastrum spinulosum* Delponte sont décrits (var. *emarginatum* Bongale var. nov., var. *octogonum* Bongale var. nov., et var. *octogonum* fa. *protrudens* Bongale fa. nov.) ainsi qu'une autre forme montrant de grandes variations (subsp. *africanum* var. *africanum* Nordst.). (traduit par la rédaction).

**KEY WORDS :** Desmids, systematics, South India.

Algae were collected from a paddy field at Belgaum of Belgaum district (15°22' to 16°58' north latitude and 74°02' to 75°25' east longitude) during August 1985 and were preserved in 4 % formaldehyde for further study. Field water had pH of 6.5 with 40 day old standing crop of paddy at the time of collections. Specimens are deposited at Algal Laboratory of this Department.

*Euastrum spinulosum* subsp. *africanum* var. *africanum* Nordst. fa. (Text fig. 4)

Cells 70-76 µm long, 55-57 µm wide, isthmus 16 µm.

Differs from the type (in Grönblad & Croasdale 1971, p. 11, Figs. 42, 137) mainly in shape of lobes and indentations as also in the type of ornamentation on lobes and in being smaller.

*Euastrum spinulosum* var. *emarginatum* var. nov. (Text. Fig. 3) :

*Cellulae elongatae et valde emarginatae; lobi tumescentes, late et rotundate incisi; isthmus angustus, sinus apertus; dentes crassi; illi ad lobos superiores et apicales confertiores; annulus spinarum parvus in lateribus utrisque inferioribus*

\* Karnataka State Sericultural Development Institute Thalaghattapura, Bangalore -560 062 India.

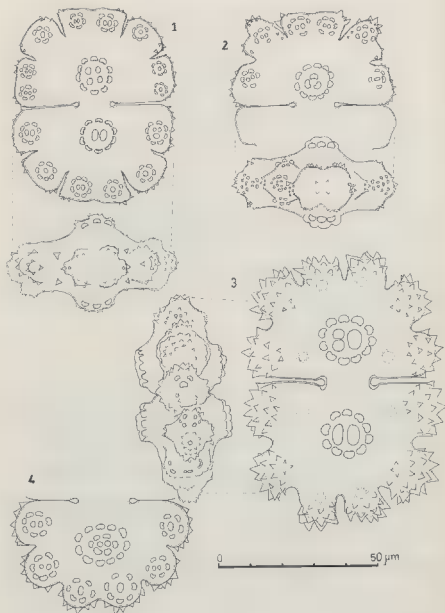


Fig. 1 : *Euastrum spinulosum* var. *octogonum* Bongale var. nov. — Fig. 2 : *E. spinulosum* var. *octogonum* fa. *protrudens* Bongale fa. nov. — Fig. 3 : *E. spinulosum* var. *emarginatum* Bongale var. nov. — Fig. 4 : *E. spinulosum* subsp. *africanum* var. *africanum* Nords. fa.

*rosulae centralis; rosula centralis distincta; 68-92  $\mu\text{m}$  latae, isthmus 13-14  $\mu\text{m}$ , a latere visae 31-33  $\mu\text{m}$  crassae.*

*Typus: KUDB-BGM/85-1-87.*

Cells elongated with a deep apical notch; lobes bulged with widely rounded indentations in between; isthmus narrow; sinus open; teeth stout, those of upper lateral and apical lobes more crowded; a ring of small spines each on two lower sides of central rosette; central rosette prominent; 68-92  $\mu\text{m}$  long, 59-62  $\mu\text{m}$  wide, isthmus 13-14  $\mu\text{m}$ , 31-33  $\mu\text{m}$  broad in lateral view.

Differs from the type (in Scott & Prescott 1961, p. 40, pl. 10, fig. 3) in upper lateral lobes being more bulged, isthmus slightly narrower, teeth stouter, central rosette larger and in having more crowded teeth on upper lateral and apical lobes, additional ring of small spines on two lower sides of central rosette and in having the deep apical notch. The alga resembles var. *orbiculare* (Wall.) De Wildeman (1884) in having deep apical notch, but differs in other major characters. It can also be considered nearer to var. *lindae* fa. *minor* Couté et Rousselin (1975, p. 100, pl. 4, fig. 5) but much differs in shape of cells and indentations and in type of ornamentations.

*Euastrum spinulosum* var. *octogonum* var. nov. (Text fig. 1) :

*Cellulae fere octogonae; lobi incisi oblique complanati; lobi polares et inferiores laterales leviter incisi; sinus leviter apertus; isthmus angustus; ornamentum centrale et illud in lobis velut annuli circulares et simul manifestum; spinae marginales paucae et parvae, superficies cetera laevis; 60-67  $\mu\text{m}$  longae, 45-52  $\mu\text{m}$  crassae, isthmus 9-10  $\mu\text{m}$ , a summo visae 30-32  $\mu\text{m}$ .*

*Typus: KUDB-BGM/85-1-42.*

Cells nearly octagonal; lobes obliquely flattened with deep acute indentations in between; polar lobes and lower lateral lobes with slight incision; sinus slightly open; isthmus narrow; central ornamentation and those on lobes as circular rings and prominent; marginal spines sparse and small; rest of surface smooth; 60-67  $\mu\text{m}$  long, 45-52  $\mu\text{m}$  broad, isthmus 9-10  $\mu\text{m}$ , 30-32  $\mu\text{m}$  broad in top view.

The alga can also be compared with var. *vaatii* Scott et Prescott (1961, p. 41, pl. 10, fig. 6) in the shape of cells, but much differs in absence of emerging verrucae on lobes and indentations being not rounded, apart from absence of spines over the surface.

*Euastrum spinulosum* var. *octogonum* Bongale fa. *protrudens* fa. nov.

(Text fig. 2) :

*Forma cellularum velut in var. octogonum* var. nov.; lobi superiores lateralesque leviter divisi parte superiore dimidio emergens et ornati dentibus magnis, et dentes quoque ad angulum laterale lorum polarium; sinus clausus; isthmus angustus; 60-62  $\mu\text{m}$  longae, 48-52  $\mu\text{m}$  latae, isthmus 12-13  $\mu\text{m}$ , a summo visae 29-30  $\mu\text{m}$ .

*Typus* : KUDB-BGM/85-1-42a.

Shape of cells same as in var. *octogonum* var. nov., upper lateral lobes slightly divided with upper half portion emerging and ornamented with large teeth, in addition to the teeth at side angle of polar lobes; sinus close; isthmus narrow; 60-62  $\mu\text{m}$  long, 48-52  $\mu\text{m}$  wide, isthmus 12-13  $\mu\text{m}$ , 29-30  $\mu\text{m}$  broad in top view.

Differs from var. *octogonum* var. nov. (Fig. 1) in having upper lateral lobes with protruding upper half, in having larger teeth, sinus being closed and isthmus slightly wider.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

I am grateful to Prof. G.W. Prescott, New York, USA for his critical observations on the drawings and to Mrs.-Angela Shipman, Exeter, USA for the latin diagnoses.

#### REFERENCES

- COUTÉ A. & ROUSSELIN G., 1975 — Contribution à l'étude des algues d'eau douce du Moyen Niger (Mali). *Bull. Mus. Nat. Hist. Nat. Bot.* 21 : 73-175.  
DE WILDEMAN E., 1884 — Observations critiques sur quelques espèces de la famille des Desmidiées. *Ann. Soc. Belge Microscop.* 18 : 97-99.  
GRÖNBLAD R. & CROASDALE H., 1971 — Desmids from Namibia (S. Africa). *Acta Bot. Fenn.* 93 : 1-40.  
SCOTT A.M. & PRESCOTT G.W., 1961 — Indonesian Desmids. *Hydrobiologia* 27 : 1-132.

## OUVRAGES REÇUS POUR ANALYSE

ROUND F.E. & CHAPMAN D.J. (Eds.), 1987 — **Progress in Phycological Research 5**. Biopress Ltd.

Voici le cinquième volume (299 pages) de cette série dont le but est d'apporter des informations approfondies sur un large éventail de thèmes phycologiques. Elle offre aussi aux auteurs la possibilité de développer leurs sujets de recherche de prédilection. Les lecteurs ne disposant pas de toutes les données bibliographiques récentes peuvent trouver, ici, des synthèses des travaux les plus avancés.

Le présent ouvrage comprend cinq mises au point différentes. La première (p. 1-122), proposée par RAVEN J.A., de l'Université Internationale de Floride, traite des aspects biochimiques, biophysiques et physiologiques des algues renfermant de la chlorophylle b et de leurs conséquences pour la taxinomie et la phylogénie. De nombreux critères sont passés en revue tels que : appareil photosynthétique et réactions de la photosynthèse; mitochondrie et respiration; métabolisme de l'azote et du soufre; la paroi; les transports membranaires; le volume et la régulation osmotique; la graviperception et la photoperception; les transports à l'intérieur du végétal. Les relations entre les différents embranchements (Chlorophytes, Bryophytes, Trachéophytes) et les diverses classes (Prasinophycées, Chlorophycées, Charophycées, Pleurastrophycées, Ulvophycées) renfermant tous de la chlorophylle b et les végétaux plus organisés sont discutées ici. Le cas des Euglénophytes est comparé avec ceux des Chlorophytes, Bryophytes et Trachéophytes. Un développement intéressant est la comparaison des Chlorarachniophytes (avec le seul genre connu actuellement : *Chlorarachnion* Geitler) avec les Euglénophytes et les autres embranchements cités précédemment. Les Chloroxybactéries (avec le genre unique : *Prochloron* Lewin) sont aussi abordées de façon comparative. Une discussion finale, montre les implications de ces considérations pour la Systématique en même temps que pour la filiation de ces différents groupes végétaux.

La seconde mise au point (p. 123-178) est présentée par SOMMER, U., de l'Institut de Limnologie Max Planck de Plön. L'auteur développe ici le problème de l'écologie du phytoplancton d'un vaste plan d'eau, à savoir le lac de Constance. Il ne limite pas son exposé aux seuls éléments nutritifs mais prend en compte les effets plus larges des migrations verticales, de la sédimentation, du broutage et de sa spécificité et, enfin, de l'impact du parasitisme chez certains genres comme *Ceratium*, *Fragilaria*, *Asterionella*, *Melosira* ou d'autres, à imputer à des Phycomycètes. Cet essai de Sommer n'est pas un simple rappel d'un sujet déjà bien débattu car, au lieu de se limiter à un seul point de vue (les éléments nutritifs), il met bien en évidence la complexité extrême inhérente aux études écologiques. Il pourrait servir de modèle pour un cours approfondi sur la dynamique phytoplanctonique.

La troisième partie de l'ouvrage (p. 179-222) concerne les rapports ioniques chez les algues marine pluricellulaires constituées de cellules de petites dimensions. Les auteurs en sont RITCHIE R.J., de l'Université Cornell à Ithaca dans l'État de New York & LARKUM A.W.D., de l'École des Sciences Biologiques de l'Université de Sydney. L'absence d'un modèle général schématisant le transport des ions chez les algues marines due au fait que la plupart des travaux antérieurs ont essentiellement porté sur les cellules géantes de Charophytes (vivant en eaux douces ou saumâtres) ou plus rarement, sur des genres marins particuliers (*Valonia*, *Valoniopsis*, *Chaetomorpha*, *Halicystis* ou encore *Acetabularia*) a conduit les auteurs à choisir les algues marines à petites cellules comme matériel expérimental. Ces organismes, par ailleurs, constituent l'essentiel de la flore algale marine benthique. Après un rappel sur les transports ioniques dans les cellules géantes d'algues, une revue des principales méthodes d'étude est proposée. Les auteurs abordent ensuite les mécanismes de transports ioniques propres à leur matériel, à savoir *Enteromorpha* et les comparent avec les résultats obtenus par d'autres auteurs entre autre chez *Porphyra*. Ces processus sont d'une grande importance pour la compréhension de la physiologie et de l'écologie des algues marines. Cet article vient en complément d'autres déjà publiés dans le volume 4.

La quatrième mise au point (p. 223-263) est apportée par PETERS A.F., de la Faculté de Biologie de l'Université de Constance. Elle concerne la reproduction et la sexualité des algues brunes appartenant à l'ordre des Chordariales. L'étude, en culture, des cycles fournit des informations sur les facteurs de l'environnement qui contrôlent la reproduction dans la nature et conduit, par voie de conséquence, à la compréhension de la répartition saisonnière et régionale des espèces. Une telle maîtrise est particulièrement intéressante pour l'exploitation des algues d'intérêt économique. Après un historique des travaux antérieurs, l'auteur expose ses propres résultats. La soigneuse approche, par des cultures, des cycles biologiques montre un grand nombre de variations dont la connaissance est riche d'enseignement à la fois pour l'écologie mais aussi pour la systématique de ce groupe. Un paragraphe spécial sur les phéromones achève cette contribution illustrée par d'excellents documents photographiques.

Enfin, le cinquième et dernier chapitre (p. 265-299) de cet ouvrage, traité par HUTSON R.A., de l'Université de Bristol (U.K.), LEADBEATER B.S.C., de l'Université de Birmingham, & SEDGWICK R.W., du Laboratoire de Biologie du «Minworth Water Reclamation Works» West Midlands, concerne un aspect appliqué de la phycologie, à savoir l'impact des algues dans la purification de l'eau de consommation. Les auteurs nous donnent un rapport clair sur les problèmes posés et sur les solutions qui peuvent y être apportées. Après un rappel des procédés de traitement (stockage, filtration, désinfection), ils abordent les sujets de l'eutrophisation et de ses relations avec le développement algal, de la filtration et des nuisances dues aux algues à ce niveau, des goûts et des odeurs, de la chloration et des dérivés «haloformes» qui en résultent et, enfin, des altérations provoquées par les algues dans la coagulation et la floculation. Cette contribution particulièrement soignée concerne aussi bien les fondamentalistes auxquels elle ouvrira des horizons, que les techniciens de l'eau auxquels elle



offrira une revue générale des différents problèmes et une bibliographie très complète.

Un seul reproche peut être imputé à ce cinquième volume, c'est l'abondance relative de fautes typographiques affectant surtout les noms scientifiques et qui dévalorise quelque peu le sérieux des documents produits.

A. Couté

RICARD M., 1987 — *Atlas du Phytoplancton marin, vol. 2 : Diatomophycées*.  
Édit. C.N.R.S., 197 p.

Voici le deuxième volume de l'Atlas du Phytoplancton marin. Nous avons déjà présenté le premier volume dans le tome 8 (3) de *Cryptogamie, Algologie*.

L'auteur étudie 166 genres de Diatomées marines et, en 1164 figures groupées en 71 planches, nous donne une illustration très complète sur ces organismes. Il s'agit de microphotos originales au microscope photonique et au microscope électronique à balayage.

L'auteur, après une préface du Professeur Dorst, nous présente en quelques pages les Diatomées : structure des valves, reproduction, cytologie, morphogénèse, biologie, écologie et technique des préparations microscopiques de Diatomées (nettoyage des valves et montage dans les résines). Une série de clefs dichotomiques permet d'arriver à la détermination des familles, des sections et des genres. Pour chaque genre, nous trouvons le nom de l'espèce-type, la synonymie, les références bibliographiques puis la description du genre et quelques précisions sur l'écologie.

Le volume se termine par une bibliographie très complète de 23 pages, un lexique des termes techniques, un index alphabétique et la table des matières.

Nous avons là un ouvrage fondamental, d'une lecture agréable qui rendra de grands services aussi bien aux spécialistes qu'aux non initiés.

P. Bourrelly



Commission paritaire 16-1-1986 - N° 60590  
Dépôt légal n° 13978 - Imprimerie de Montligeon  
Sorti des presses le 20 août 1988  
Imprimé en France  
Éditeur : A.D.A.C. (Association des Amis des Cryptogames)  
Président : A. Couté; Secrétaire : D. Lamy  
Trésorier : R. Baudoin; Directeur de la publication : H. Causse